

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GELİŞİM AŞAMASINDAKİ SIÇANLARDA COX-2 İNHİBİTÖRÜ
İLAÇ KULLANIMININ TOKSİSİTE AÇISINDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Programı
Doktora Tezi

Uzman Eczacı
L. Sumru SÖZER KARADAĞLI

İZMİR
2006

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GELİŞİM AŞAMASINDAKİ SIÇANLARDA COX-2 İNHİBİTÖRÜ
İLAÇ KULLANIMININ TOKSİSİTE AÇISINDAN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Programı
Doktora Tezi

Uzman Eczacı
L. Sumru SÖZER KARADAĞLI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ferzan LERMİOĞLU

İZMİR
2006

ÖNSÖZ

Çalışmalarım sırasında gerekli tüm olanakları sağlayan, yardımlarıyla bana destek olan tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr Ferzan Lermioğlu' na,

Destek ve yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, çalışmalarım süresince gösterdikleri sabır ve anlayış için aileme, özveri ve katkılarından dolayı sevgili eşime

Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİL LİSTESİ.....	IV
TABLO LİSTESİ.....	V
I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	4
II.1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ).....	4
II.1.1. NSAİ İlaçların Sınıflandırılması.....	4
II.1.2. NSAİ İlaçların Etki Mekanizmaları.....	5
II.1.3. NSAİ İlaçlar Tarafından Prostaglandin Biyosentezinin İnhibisyonu ve Araşidonik Asit Metabolizması.....	7
II.2. Siklooksijenaz Enzimleri (COX).....	9
II.2.1. COX-1 ve COX-2 Enzimlerinin Özellikleri.....	11
II.3. COX-2' nin Rolü.....	13
II.4. COX-1 ve COX-2 için İlaçların Selektivitesi ve Advers Etkiler.....	15
II.4.1. COX-2 İnhibitörleri.....	17
II.5. Nimesulidin Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması.....	17
II.6. Farmakokinetik Özellikler.....	19
II.6.1. Absorpsiyon ve Dağılım.....	19
II.6.2. Metabolizma ve Eliminasyon.....	20
II.7. Farmakolojik Özellikleri.....	22
II.7.1. Antiinflamatuvar Aktivite.....	22
II.7.2. Analjezik ve Antipiretik Aktivite.....	23
II.7.3. Terapötik Etkinlik.....	23
II.8. Çocuklardaki Kullanımı.....	24
II.9. Uyuş.....	24
II.10. Advers Etkiler.....	25
II.11. Selekoksib'in Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması.....	29
II.12. Farmakokinetik Özellikler.....	30
II.12.1. Absorpsiyon ve Dağılım.....	30
II.12.2. Metabolizma ve Eliminasyon.....	31
II.13. Farmakolojik Özellikleri.....	32
II.13.1. Antiinflamatuvar ve Analjezik Etkiler.....	32
II.13.2. Terapötik Etkinlik.....	32
II.13.3. Selekoksib' in Osteoartritteki Etkisi.....	32
II.13.4. Selekoksibin Romatoid Artritteki Etkisi.....	33
II.13.5. Familial (Ailesel) Adenomatöz Polipozis'li (FAP) Hastalarda Selekoksibin Etkisi.....	34
II.14. Advers Etkiler.....	34
II.15. Uyuş.....	42
II.16. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma.....	42
II.16.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	42
II.16.2. Hücrede ROS Kaynağı.....	45
II.16.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri.....	47
II.16.4. Oksidatif Stres.....	49

II.16.5.	Serbest Radikallere Karşı Hücrel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar)	50
II.16.6.	Lipid Peroksidasyonu	55
II.17.	COX-2 İnhibitörleri ve Oksidatif Stres	57
III.	GEREÇ VE YÖNTEM	60
III.1.	Kimyasal Maddeler	60
III.2.	Cihaz ve Malzemeler	61
III.3.	Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü	61
III.4.	Analiz Yöntemleri	63
III.4.1.	Kan Örneklerinin Hazırlanması	63
III.4.2.	Serum Analizleri	64
III.4.3.	Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini	64
III.4.4.	Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	65
III.4.5.	Eritrositlerde Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini	67
III.4.6.	Eritrositlerde Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Enzim Aktivite Tayini ...	68
III.4.7.	Glutasyon Tayin Yöntemi	68
III.4.8.	Malondialdehid Tayin Yöntemi	71
III.4.9.	Kan Hücre Sayımı	73
III.4.10.	Histopatolojik Çalışmalar	73
III.5.	İstatistiksel Analiz	73
IV.	BULGULAR	74
V.	TARTIŞMA VE SONUÇ	104
VI.	ÖZET	112
VII.	SUMMARY	114
VIII.	KAYNAKLAR	115
	ÖZGEÇMİŞ	140

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Araşidonik asit metabolizması	5
Şekil 2: COX enzimlerinin 3 boyutlu yapısı	11
Şekil 3: Siklooksijenaz enzimlerinin etki yerleri	14
Şekil 4: Nimesulidin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 5: Selekoksibin kimyasal yapısı.....	29
Şekil 6: Antioksidan savunma sistemi	46
Şekil 7. Lipid peroksidasyonunun oluşumu	56
Şekil 8: SOD kalibrasyon eğrisi	66
Şekil 9: Glutatyon kalibrasyon eğrileri	70
Şekil 10: MDA kalibrasyon eğrisi	72
Şekil 11: Vücut ağırlıklarındaki değişim ve organ ağırlıkları	90
Şekil 12: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler	92
Şekil 13: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler	93
Şekil 14: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler	94
Şekil 15: Kontrol ve ilaç gruplarındaki antioksidan enzim aktiviteleri.....	96
Şekil 16: Kontrol ve ilaç gruplarındaki glutatyon değerleri.....	97
Şekil 17: Kontrol ve ilaç gruplarındaki lipid peroksidasyonu değerleri.....	98
Şekil 18: Kontrol ve ilaç gruplarındaki hematolojik ölçümler.....	100
Şekil 19: Nimesulid uygulanan sıçanlarda karaciğer ve böbrek dokuları histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar.....	101
Şekil 20: Selekoksib uygulanan sıçanlarda karaciğer dokusu histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar	102
Şekil 21: Selekoksib uygulanan sıçanlarda böbrek dokusu histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar	103

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Kontrol grubuna ait biyokimyasal değerler	77
Tablo 2: Nimesulid grubuna ait biyokimyasal değerler	78
Tablo 3: Selekoksib grubuna ait biyokimyasal değerler	79
Tablo 4: Kontrol grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri	80
Tablo 5: Nimesulid grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri	81
Tablo 6: Selekoksib grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri	82
Tablo 7: Kontrol grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri	83
Tablo 8: Nimesulid grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri.....	84
Tablo 9: Selekoksib grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri	85
Tablo 10: Kontrol grubuna ait hematolojik değerler.....	86
Tablo 11: Nimesulid grubuna ait hematolojik değerler	87
Tablo 12: Selekoksib grubuna ait hematolojik değerler.....	88
Tablo 13: Kontrol ve ilaç gruplarında ortalama vücut ve organ ağırlıkları	89
Tablo 14: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametre ortalamaları	91
Tablo 15: Kontrol ve ilaç gruplarındaki antioksidan enzim aktivite ve lipid peroksidasyonu değerleri	95
Tablo 16: Kontrol ve ilaç gruplarındaki hematolojik ölçüm ortalamaları	99

I. GİRİŞ

Nonsteroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçlar osteoartrit, romatoid artrit, ankilozan spondilit, gut gibi inflamasyon ve ağrının eşlik ettiği hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak bu ilaçların özellikle gastrointestinal sistemde neden oldukları ülser, perforasyon ve kanama gibi ciddi advers etkileri kullanımlarını önemli oranda sınırlandırmaktadır (92).

NSAİ ilaçlar, siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe ederek prostanooidlerin oluşumunu azaltırlar. Terapötik ve advers etkilerinden bu mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir (72). Siklooksijenaz enzimlerinin COX-1 ve COX-2 olmak üzere, farklı lokalizasyona ve fonksiyonlara sahip 2 izoformunun saptanması, araştırmaların prostaglandinlerin biyosentezinin daha selektif inhibitörlerinin geliştirilmesi yönünde yoğunlaşmasına neden olmuştur (94). COX-1 dokuların çoğunda sürekli bulunan temel izoformdur; midede bulunan COX-1, koruyucu prostaglandinler (PG)' in oluşumuna neden olur. COX-2 ise özellikle iltihap koşullarına eşlik eden, indüklenebilir bir enzimdir. Bazal koşullarda böbrek, santral sinir sistemi, reproduktif sistem ve pankreas gibi sınırlı bölgede bulunmasına karşın, inflamasyon durumlarında indüklenerek inflamasyonlu dokuda yüksek düzeyde oluşur. NSAİ ilaçlar ile oluşan gastrointestinal toksisitenin esas olarak gastrik COX-1 izoformunun inhibisyonu, antiinflamatuvar özelliklerinin ise COX-2 izoformunun inhibisyonu ile ilişkili olduğu hipotezi, COX-2' yi selektif inhibe eden yeni antiinflamatuvar ajanların geliştirilmesine yol açmıştır. Bu yeni NSAİ ilaçların güçlü antiinflamatuvar

etkinliklerine karşın, renal ve gastrointestinal toksisitelerinin daha düşük olacağı düşünülmüştür (72). Nimesulid, bu amaçla geliştirilen, güçlü analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkinliğe sahip selektif COX-2 inhibitörü bir ilaçtır. Özellikle hızlı ve güçlü antipiretik etkinliği nedeniyle, pediatrikte sıklıkla kullanılmaktadır. Çeşitli nedenlere bağlı ateşi olan çocuklarda antipiretik ve analjezik etkinliğinin, parasetamol ve ibuprofene göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (23). Nimesulidin güvenli ve iyi tolere edilen bir ilaç olduğuna ilişkin çeşitli vaka raporları, pazarlama dönemi araştırmaları ve epidemiyolojik çalışmalar olmasına karşın, son yıllarda bildirilen fatal advers reaksiyonlar nedeniyle, özellikle çocuklarda kullanımı yeniden sorgulanmaya başlanmıştır (153,179). Nimesulid fatal olabilen deri reaksiyonları ve neonatal böbrek yetmezliğine neden olmakla birlikte, bildirilen vakaların çoğu, ilacın özellikle kadınlarda ve çocuklarda görülen hepatotoksitesiyle ilişkilidir. Çocuklarda görülen 3 fatal karaciğer yetmezliği vakası nedeniyle nimesulid preparatları 1999' da İsrail' de piyasadan çekilmiş, Portekiz' de ise pediatrik kullanımı durdurulmuştur. İngiltere, Almanya ve Fransa gibi çeşitli ülkelerde nimesulidin pediatrik preparatları ruhsatlandırılmamıştır. 2002 yılında Finlandiya ve İspanya' da nimesulid preparatları Boehringer tarafından piyasadan çekilmiştir (84,179). Ülkemizde 27/10/2003 tarihinde Sağlık Bakanlığı yalnızca pediatrik preparatların kullanımı yasaklamıştır.

Nimesulidin hepatotoksik etki mekanizması kesin olarak aydınlatılmamıştır. Moleküler düzeyde, aromatik nitro grubunun indirgenmesine bağlı biyoaktivasyonunun, oksidatif strese neden olabileceği ve reaktif ara ürünlerin proteinlere kovalent bağlanmasını indükleyeceği ileri

sürülmektedir (23). Diğer taraftan nimesulidin ve/veya temel metaboliti 4-OH-nimesulidin serbest oksijen radikallerini temizleyici özelliği nedeniyle antioksidan aktivite gösterdiği, in vitro modellerde MDA oluşumunu anlamlı olarak inhibe ettiği gösterilmiş, nimesulidin antioksidan özelliğinin farmakolojik etkisinden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (57,58).

Tüm bu verilerden hareketle çalışmamızda gelişim aşamasındaki dişi sıçanlarda nimesulidin hepatik, renal ve hematolojik toksisitesini ve olası hasar durumunda oksidatif stres ve antioksidan enzim aktiviteleriyle ilişkisini araştırmayı amaçladık. Nimesulid, selektif COX-2 inhibitörü bir ilaçtır ve terapötik dozlarda, az da olsa, COX-1 izoformunu inhibe eder (16). Bu nedenle çalışmamızda, yalnızca COX-2' ye spesifik NSAİ ilaçlardan olan selekoksibi kullanarak, olası nimesulid toksisitesini, selekoksib ile elde edilen bulgularla karşılaştırmalı olarak değerlendirmeyi amaçladık

II. GENEL BİLGİLER

II.1. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar (NSAİ)

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle tedavide kullanılırlar. Özellikle ağrılı ve inflamasyonlu hastalıklarda, uzun süre analjezik kullanılması gereken durumlarda, bağımlılık yapmamaları ve terapötik etkilerine tolerans gelişmemesi, bu grup ilaçların terapötik değerini artırmaktadır. Bu gruptaki ilaçların büyük bir kısmı sayılan üç etkiyi de gösterirler. Bazılarının ise sadece analjezik ve antipiretik etki vardır. Genellikle semptomatik, kısmen de tedavi edicidirler (53,92).

II.1.1. NSAİ İlaçların Sınıflandırılması

NSAİ ilaçların kimyasal olarak sınıflandırılması (92):

Nonselektif COX İnhibitörleri:

Salisilik asit türevleri:

Aspirin, sodyum salisilat, diflunisal.

Para-aminofenol türevleri:

Asetaminofen.

Pirazolon türevleri:

Aminopirin, dipiron, fenilbutazon, oksifenbutazon, propifenazon.

İndol asetik asit türevleri:

İndometasin, sulindak.

Profenler (Fenil propionik asit türevleri):

İbuprofen, naproksen, fenoprofen, ketoprofen, flurbiprofen.

Fenamik asit türevleri:

Mefenamik asit, flufenamik asit.

Enolik asit türevleri (Oksikamlar):

Piroksikam, tenoksikam.

Fenil asetik asit türevleri:

Diklofenak sodyum, nabumeton.

Selektif Siklooksijenaz-2

inhibitörleri:

Rofekoksib, selekoksib, etodolak, nimesulid.

Diğer antiinflamatuvar ilaçlar:

Romatoid artrit tedavisinde kullanılanlar:

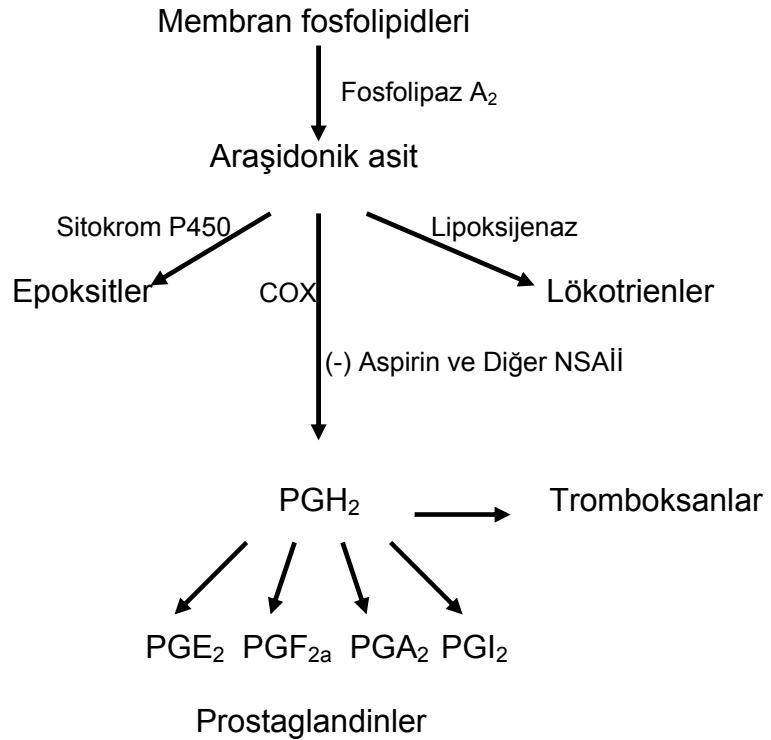
Altın bileşikleri, penisilamin, sulfasalazin.

Gut tedavisinde kullanılan ilaçlar:

Kolşisin, allopurinol, probenesid.

II.1.2. NSAİ İlaçların Etki Mekanizmaları

İnflamasyon, enfeksiyon ajanları, iskemi, antijen-antikor etkileşmesi, yanma veya diğer fiziksel yaralanmalar gibi çok sayıda farklı uyarı sonucu oluşan bir seri olaylar zinciridir. Sonuçta genellikle eritem, ödem, ağrı ve sıcaklık artması oluşur. NSAİ ilaçların ana etki mekanizmalarının siklooksijenaz enzimini (COX) bloke ederek prostaglandin sentezini baskı altına almak yoluyla olduğu kabul edilmektedir (25,94) (Şekil 1).



Şekil 1: Araşidonik asit metabolizması

Gerek siklooksijenazlar, gerekse lipoksijenazlar yoluyla ortaya çıkan ürünler kuvvetli inflamasyon araçlarıdır. Ayrıca aynı ürünlerin ateş oluşturma

ve ağrı uyarma özellikleri de vardır. Tedavide güvenle kullanılan lipoksijenaz inhibitörleri yoktur. COX enzimleri ise prostaglandinleri oluşturur. Prostaglandinler bir yandan oldukça kuvvetli inflamasyon araçlarıdır, bir yandan da oldukça önemli fizyolojik işlevleri vardır. NSAİ ilaçların TXA2 inhibisyonu reversibl olup kullanılan NSAİ ilacın yarılanma ömrüne bağlı olarak ortadan kalkar. NSAİ ilaçların tüm etkileri prostaglandin inhibisyonu ile açıklanmaz. Klinik etki ise ancak çok yüksek dozlarda görülür. Diğer önemli bir nokta da değişik organlara özgü COX enzimi bulunmasıdır. Örneğin beyinde bulunan COX enzimine bu ilaçlar etki etmez. Tüm bunlar NSAİ ilaçların etki mekanizmalarının henüz tam olarak açıklığa kavuşmadığını göstermektedir (191).

İnflamatuvar reaksiyona bağlı ağrının, dokularda iki ayrı tipte doku mediyatörü tarafından duyuşal sinir uçlarının sinerjik olarak uyarılmasına bağlı olduğu gösterilmiştir. Dokuda oluşun ağrı mediyatörlerinin bir grubu, sinir ucunu doğrudan doğruya uyarun aljezik mediyatörlerdir. İkinci grup ise tek başlarına ağrı oluşturmazlar, duyuşal ve sinir uçlarının aljezik etkenlere karşı duyarlılığını arttıırlar ve ağrı yapıcı etkilerini güçlendirirler. Bu gruba da hiperaljezik mediyatörler denir. Hiperaljezik mediyatörlerin en başta gelenleri prostasiklin ve prostaglandinlerdir. NSAİ ilaçlar da bu maddelerin sentezini inhibe ederek, yani hiperaljezik komponenti baskı altına alarak ağrı kesici etki gösterirler. Dokudaki tahriş ve zedelenme sonucu oluşun inflamasyon durumunda ise, lokal araşidonik asitten yine prostasiklin ve prostaglandinler sentezlenir. Bu sırada siklik endoperoksitler (PGG2 ve PGH2), tromboksan A2 ve trombosit aktive edici faktör (PAF)' ün oluşumları da artar (92).

NSAİ ilaçların etki mekanizmaları şu şekilde özetlenebilir (92):

1-PG sentezini azaltmak (Siklooksijenaz enzim inhibisyonu).

2-Lizozomal enzim salınımını azaltmak.

3-Kompleman aktivasyonunun inhibisyonu.

4-Serbest oksijen radikallerinin inhibisyonu.

5-Lipooksijenaz inhibisyonu ile lökotrienlerin sentezini azaltmak.

6-İnflamatuvar hücrelerin fonksiyonlarını ve çoğalmalarını baskılamak.

II.1.3. NSAİ İlaçlar Tarafından Prostaglandin Biyosentezinin İnhibisyonu ve Araşidonik Asit Metabolizması

1970' lerde NSAİ ilaçların antiinflamatuvar özellikleri ve mekanizmaları, prostaglandin sentezini inhibe etmeleri ile ilişkili bulunmuştur. Prostaglandin sentez yolağındaki ilk enzim prostaglandin endoperoksit sentaz' dır. Bu enzim araşidonik asiti PGH₂ ve PGG₂' ye çevirir. Araşidonik asitin prostaglandinlere biyotransformasyonunu katalizleyen enzimler siklooksijenaz (COX) enzimleridir. Bu enzimlerin bloke edilmesiyle PG sentezinin inhibe olduğu açığa çıkarılmıştır (164). Araşidonik asitin fosfolipaz A₂ tarafından hücre membranındaki fosfolipidlerden salınmasından sonra iki basamakta COX tarafından metabolize edilir; ilk reaksiyon PGG₂ ile ilgilidir, ikincisi 15 no' lu karbondaki peroksit grubunun PGH₂' nin yapısındaki bir alkol grubuna indirgenmesiyle oluşan peroksidaz reaksiyonudur. PGH₂ biyolojik aktif PG' lerin ve tromboksanların öncülüdür (64,116).

Araşidonik asit, hücre membranındaki fosfolipidlerden esas olarak fosfolipaz A₂ enzimi aracılığı ile koparılır. NSAİ ilaçlar COX enzimini inhibe ederler, fosfolipaz A₂' yi etkilemezler. Araşidonik asit, COX enzimi ile endoperoksitlere dönüşür (PGE₂, PGI₂, TXA₂). Bunlar ağrı, ateş,

inflamasyon, pıhtılaşma, ovülasyon, doğumun başlaması, kemik metabolizması, yara iyileşmesi, sinirlerin gelişmesi, vasküler tonus artışı, immün cevap ve böbrek fonksiyonlarında önemli rol oynarlar. Prostaglandin ve diğer COX ürünlerinin sentezinde hız kısıtlayıcı basamak fosfolipaz A2' dir. Araşidonik asitten lipoksijenaz enzimi ile lökotrienler oluşturulur. Ancak NSAİ ilaçların lökotrienler üzerinde belirgin bir inhibitör etkisi yoktur. Monositler hem LTB4 hem de LTC4' ü sentez ederler. TXA2 trombositlerde sentezlenir ve onların agregasyonunu sağlar. PGI2 güçlü vazodilatatördür, trombosit agregasyonunu inhibe eder. PG' ler ise lokal kıkırdak ve kemik yıkımını uyarır (92,147).

Prostaglandinler, LTB4, TA2, polimorfonükleer lökositler ve monosit /makrofajları aktive ederler ve iltihap odağına çekerler, yani kemotaktik etki yaparlar. Polimorfonükleer lökositler akut inflamatuvar reaksiyonun oluşmasında rol oynayan en önemli hücrelerdir. Bu hücrelerin aktive edilmeleri sonucu fagositoz fonksiyonu da aktive olur ve 3 çeşit sitotoksik madde salgılanır: Serbest oksijen radikalleri, lizozomal enzimler ve lipoksijenaz ürünleri.

Siklik endoperoksit olan PGG2' nin PGH2' ye dönüşümü sırasında ve ayrıca araşidonik asitten lipoksijenaz aracılığı ile lipid peroksitler oluşurken, reaktif oksijen radikalleri olan süperoksit radikali ve serbest hidroksil radikali oluşur. Sitotoksik olan bu bileşikler inflamasyon olayının oluşumuna katkıda bulunurlar. Gerçekte reaktif oksijen radikalleri hücrede normal durumda da oluşurlar, fakat süperoksit dismutaz ve benzeri enzimlerle hemen inaktive edilirler. İnflamasyonlu dokuda özellikle polimorfonükleer lökositler ve

makrofajlar tarafından aşırı derecede ve kontrolsüz bir şekilde reaktif oksijen radikali üretilir .

NSAİ ilaçların hepsi, inflamasyona yol açan etkenler tarafından nötrofil lökositlerin aktive edilmesini ve ona eşlik eden olayları doza bağımlı bir şekilde önlerler (92).

II.2. Siklooksijenaz Enzimleri (COX)

COX ya da prostaglandin endoperoksit sentaz (PGHS) enzimleri araşidonik asitten prostaglandinleri sentezleyen anahtar enzimlerdir. Prostaglandinler vücutta erirositler hariç birçok hücrede yapılan ve çeşitli kimyasal ve mekanik uyarımlar ile salınan lipid mediyatörleridir. İnflamasyonda ağrı, ateş ve ödemin en önemli mediyatörleridirler. Günümüzde COX tarafından sentezlenen ve araşidonik asit kaynaklı 100' den fazla madde tanımlanmıştır. NSAİ ilaçlar tarafından biyosentezlerinin inhibe edilmesi organizmada fizyopatolojik fonksiyonlarda büyük değişikliklere neden olur (25). COX enziminin iki farklı gen tarafından kodlanan ve farklı fizyopatolojik olaylarca indüklenen 2 alt grubu bulunmaktadır:

1) COX-1: Bu enzim genelde homeostazisi düzenleyici özelliktedir. Aktivitesi genelde sabittir ve bazı nadir durumlarda artış gösterir. Enzim aktivitesi genel olarak dört farklı bölgede bulunmaktadır (25,62):

- Trombositlerde, araşidonik asidin tromboksan A₂' ye dönüşmesini sağlar. Klinikte yaygın olarak kullanılan asetil salisilik asit, etkisini trombositlerde COX-1 enzimini inhibe ederek gösterir. Trombositlerdeki tromboksan A₂ yapımındaki azalma sonucu trombosit agregasyonu ve vazokonstrüktif etki, dolayısı ile tromboza olan eğilim azalır.

- Gastrik mukozada yaygın olarak bulunur. Sitoprotektif prostaglandinlerin oluşumundan sorumludur. İnhibe olması sonucu mukozasında koruyucu etki sağlayan prostaglandinlerin sentezi azalır ve ülser oluşumu kolaylaşır.

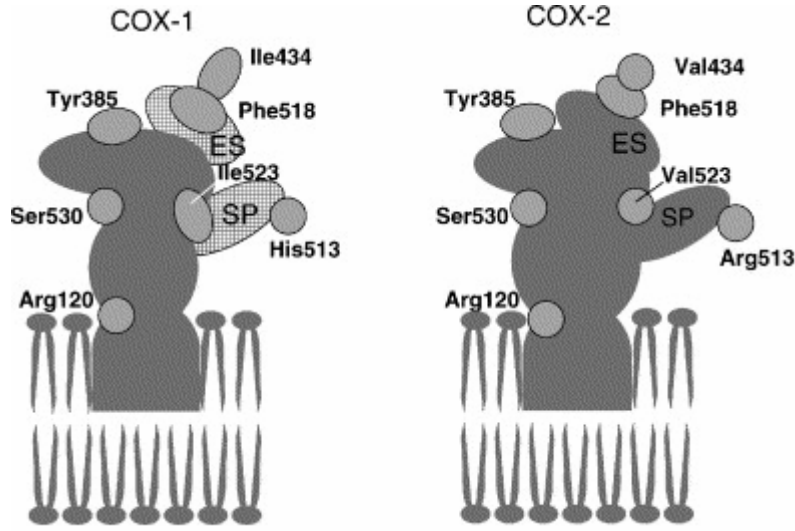
- Damar endotelinde, özellikle aterosklerotik bölgelerdeki prostasiklin (PGI₂) üretiminde rol oynadığı gösterilmiştir.

- Böbrekte, vasküler yapıda, toplayıcı kanallarda ve Henle Kulbunda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bölgelerde prostaglandin E sentezini uyararak böbrek kan akımını artırır, su ve tuz tutulumunu azaltır.

2) COX-2: Sağlıklı bireylerde yapılan çalışmalarda COX-2' nin vasküler endotel dokuda PGI₂ üretiminden sorumlu asıl enzim olduğu gösterilmiştir (25,94). Normal koşullarda endotel dışındaki bölgelerdeki aktivitesi çok düşüktür. Ancak COX-2 geni inflamasyon başta olmak üzere birçok durumda indüklenebilir. Sitokinler ve büyüme faktörleri bu enzimin aktivasyonunu arttırmaları (94). Bazal koşullarda beyin, böbrek, reproduktif sistem ve pankreas gibi sınırlı bölgelerde COX-2 aktivitesi saptanırken, inflamatuvar süreçlerde özellikle sinovyal sıvılarda COX-2 aktivitesinde belirgin artış olmaktadır. Romatoid artritte bu aktivite artışı çok belirgin iken, osteoartritte de daha az olmakla birlikte sinovyal bölgede yine bir aktivite artışı olduğu gösterilmiştir. Böbrekteki etkisi COX-1' e benzerlik göstermektedir. Kolorektal adenom ve karsinomlarda COX-2 varlığı artmaktadır. Aterom plaklarında COX-2 enzim aktivasyonunun arttığının gösterilmesi selektif COX-2 inhibitörlerinin ateroskleroz sürecini yavaşlatabileceği düşüncesini doğurmuştur (62).

II.2.1. COX-1 ve COX-2 Enzimlerinin Özellikleri

1976' da 71 kDa molekül ağırlığındaki COX-1 koyun seminal vezikülünden izole edilmiş ve 1988' de üç farklı grup tarafından tanımlanmıştır. Bu enzim hem COX hem de hidroperoksidaz aktivitesi gösterir. Garavito ve arkadaşları (135) COX-1' in üç bağımsız üiteden oluşan, üç boyutlu yapısını tayin etmişlerdir; epidermal büyüme faktörü benzer yapı, membrana bağlı bölüm ve enzimatik yapı (Şekil 2) (25). Enzim membran lipid bariyerin tek bir bölümüyle bütünleşir ve böylece COX kanalının pozisyonu bariyerin içinden aktif bölgeye araşidonik asitin geçişine izin verir. COX aktif bölgesi uzun hidrofobik bir kanaldır.



Şekil 2: COX enzimlerinin 3 boyutlu yapısı (25).

(COX-1' deki taralı bölgeler amino asit yapısı nedeniyle COX-2' den daha ulaşılabilir bölgelerdir. Araşidonik asit ve NSAİ ilaçlar Try 385 ve Arg 120 bölgesine bağlanırken, aspirin Ser 530 bölgesine bağlanır. SP: Side pocket, ES: Extra space)

COX-1, COX enziminin fizyolojik fonksiyonlarda yer alan yapısal izoformudur. Normal hücre aktivitesini düzenleyen prostaglandin sentezinde yer alır. Aktivasyon durumunda ise örneğin, prostasiklin üretimi,

endotelyumdan saliverildiğinde antitrombojenik, gastrik mukoza tarafından saliverildiğinde hücre koruyucudur. Trombositlerdeki COX-1' de TXA2 üretimine neden olur, bu da beklenmeyen kanamaların önlenmesinde trombositlerin agregasyonunu sağlar (25).

COX-2 izoenzimiyle ilgili araştırmalar 1980' lerin sonlarında başlamıştır. İlginç olarak inflamasyonlu dokularda COX proteinlerinin miktarının normal dokulardan anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir. Aynı etkiler interlökin (IL)-1 ile uyarılan insan fibroblastlarında ve lipopolisakkaritlerle (LPS) uyarılan monositlerde de görülmüştür. LPS tarafından indüklenen PG' lerin oluşumu deksametazon ya da antiinflamatuvar interlökinler (IL-4, IL-11 ve IL-13) tarafından baskılanabilir (144). Ancak bu etkilerin tersi olarak temel PG üretiminin LPS tarafından indüklenmediği ve deksametazon tarafından inhibe edilmediği de gösterilmiştir. İnflamasyon bölgelerinde farklı bir stimülasyona neden olan siklooksijenaz enziminin varlığı kabul edilmiş ve COX-2 olarak adlandırılmıştır. 1991' de COX-2 izoformunun varlığı kanıtlanmıştır.

Bunu takiben normal fonksiyonlardan ve bazal PG düzeylerinden sorumlu enzim COX-1 olarak adlandırılmıştır. Yaklaşık olarak bütün dokularda; kolon, mide, dalak, böbrek, akciğer, karaciğer, kalp ve beyin bu enzimi içermektedir. COX-1' ler tarafından üretilen PG' ler böbrek ve midede vazodilatör olarak davranır ve GI kanalındaki COX-1 hücre koruyucu özellikleri olan PG' leri üreten asıl izozimdir. Renal plazma akışı ve glomerüler filtrasyon, sistemik vazokonstrüksiyon periyodu sırasında COX-1' in etkisiyle sürdürülür. Trombositlerde, trombosit agregasyonunun mediyatörü olan tromboksanın üretiminde de bu enzim rol oynamaktadır.

1970' lerde aspirinin prostaglandin salınımını bloke ettiği açıklığa kavuşturulmuştur. Ardından naproksen, ibuprofen, piroksikam, diklofenak gibi birçok NSAİ ilaç kullanıma sunulmuştur. PG sentezi inhibisyonu NSAİ ilaçların bütün etkilerini açıklamaktadır. Bu ilaçlar inflamatuvar sürece neden olan PG' lerin COX-2 tarafından patolojik olarak fazla düzeyde üretilmesini engellerler (terapötik etki) ve aynı zamanda COX-1 tarafından fizyolojik görevlerdeki prostanoidlerini engeller (yan etki) (25). Örneğin, aspirinin ülserojenik etkisi gastrik mukozada önemli hücre koruyucu etkiye sahip midedeki PG üretiminin inhibisyonu nedeniyle oluşur. Aspirin tarafından oluşan inhibisyon COX-1' in aktif bölgesindeki serin 530' un irreversibl asetilasyonu ile olmaktadır. Bu etki indometazin, ibuprofen gibi diğer NSAİ ilaçlar ile de oluşmaktadır. Bu inhibisyon analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkiden sorumlu olduğu kadar, gastrotoksisite, antitrombotik etkiden de sorumludur (Şekil 3) (25).

Son yıllarda COX' in yeni bir izoformunun daha varlığı bildirilmiştir. Antiinflamatuvar bir izoform olan COX-3 izoformunun inflamasyonun çözülme basamağında indüklenen bir izoenzim olarak öngörüldüğü Willoughby ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (189). 2002' de Simmons ve arkadaşları COX-3' ü asetaminofen tarafından inhibe edilen bir COX-1 değişkeni olarak tanımlamışlardır (36). Ancak bu izoenzim ve insanlardaki varlığı henüz tartışmalıdır.

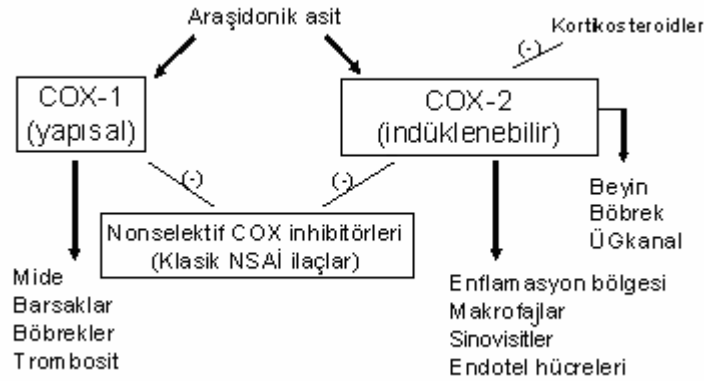
II.3. COX-2' nin Rolü

NSAİ ilaçların her iki izozim (COX-2, COX-1) üzerindeki etkilerinin oranı onların antiinflamatuvar dozlarda oluşturdukları yan etkilerle ilgilidir. COX-2' ye karşı yüksek güce sahip ilaçlar ve düşük COX-2/COX-1 aktivite

oranına sahip ilaçlar daha güçlü antiinflamatuvar etki ile daha az mide ve böbrek yan etkilerine sahip olacaklardır (25).

İlk üretilen selektif COX-2 inhibitörleri selekoksib ve rofekoksibdir. Selekoksibin yapısı bir sülfonamid grubu ve rofekoksibin yapısı bir metilsülfon içermektedir. Bu ilaçların sülfür içeren fenil halkası enzimin COX-2 katalitik kanalının yan cebine bağlanır ancak COX-1' in aktif bölgesiyle hafifçe etkileşir. Böylece bu ilaçlar güçlü COX-2 inhibitörü, zayıf COX-1 inhibitörü olurlar. Ancak insan çalışmalarında COX-2 selektiviteleri selekoksib için 7.6, rofekoksib için 35 bulunmuştur (143).

COX-2 aktivitesi, antiinflamatuvar ajan olarak selektif COX-2 inhibitörlerinin kullanılması durumunda, inflamasyondan sorumlu bazı hücre tiplerinde indüklenir. Bu fizyolojik şartlar altında COX-2' nin omurilik, böbrekler ve pankreatik adacık hücreleri gibi değişik dokularda yapısal olarak bulunduğunu giderek daha güçlü şekilde kanıtlamaktadır (13,193).



Şekil 3: Siklooksijenaz enzimlerinin etki yerleri (25).

COX-2 ovülasyonda ve implantasyonda önemli rol oynar ve hamileliğin erken dönemlerinde farklı zamanlarda ortaya çıkar. Enzim, anjiyeneziste (plasenta oluşumu için gerekli) ve yumurtaların fertilizasyonunda rol oynar, ayrıca doğum sancılarının ilk belirtileri içinde önemlidir. Bu yüzden COX-2

inhibitörleri hamilelik sırasında kontrendikedir. COX-2 ayrıca yara iyileşmesi sırasında ortaya çıkmakta (34), Alzheimer hastalığı ile ilgili görünmekte (12) ve kolorektal kanser gelişiminde ortaya çıkmaktadır (140).

COX-1' in aksine COX-2, beyin ve omurilikte görülür, ancak aynı zamanda iskemi, immunomodülatörler, sitokinler, yapısal beyin hasarı, toksik ajanlar ve olgunlaşma süreci gibi farklı faktörlerle yüksek oranda düzenlenir. COX-2' nin beyin endotel hücrelerdeki tayini ve bunun ateş sırasındaki rolü de önemli konulardandır (83). Bir yandan COX inhibitörlerinin analjezik etkisi santral, özellikle omurilikteki düzeyleriyle ilgili olabilir, diğer yandan periferde lokalize olan kısmıyla da ilgili olabilir (87).

Yapısal omurilikte COX-2 izozimi hiperanaljezik etki için önemli bir katılımcıdır ve omurilikte ağrı mediasyon süreçlerinde yer alırlar. Beyin omurilik sıvısında PGE2 düzeylerinin yükselmesiyle omurilik nöronlarında ve SSS' nin diğer bölümlerinde yaygın bir şekilde COX-2' nin inhibisyonu söz konusudur (150).

II.4. COX-1 ve COX-2 için İlaçların Selektivitesi ve Advers Etkiler

Birçok deneysel ve klinik veri antiinflamatuvar terapide COX enzimlerinin inhibisyonunun rolünü ve NSAİ ilaçların kullanımıyla ilgili yan etkilerde, COX-1 inhibisyonunun ilişkili olduğunu desteklemektedir (10,94).

COX-1 ve COX-2 arasındaki en önemli farklılıklar, yukarıda söz edildiği gibi farklı dağılımlarının yanı sıra, genetik tanımlamadaki farklılık ve farklı protein yapısıdır. COX-1' in geni 9. kromozomda lokalize olurken COX-2 1. kromozomdadır (96,178). COX izoenzimleri endoplazmik retikulumda membrana bağlı olarak bulunurlar (66). Bu enzimler, hücre membranından

geçişini sağlayan hidrofobik kanallar oluştururlar. Araşidonik asit veya bir inhibitör bu kanala bağlanır. COX-2 proteini COX-1' den biraz daha büyük kanal oluşturur ve buraya selektif COX-2 inhibitörleri bağlanır. COX-1 ve COX-2' nin farklı bağlanma bölgeleri ve protein yapıları, ilaç etkileşimleri, farmakolojik etkilerde de önemli rol oynar.

İnflamasyon ve ağrı tedavisinde, COX-1 ve COX-2 inhibitörleri benzer aktivite gösterirler. Ancak COX-1 inhibitörlerinin yan etkilerinin daha fazla olması, son yıllarda COX-2 inhibitörlerinin önemini artırmıştır. Klasik NSAİ ilaçlarla ilgili en sık rastlanan şikayet gastrointestinal komplikasyonlardır. Bu konuda COX-2 inhibitörleri ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, 6 ve 12 ay süreyle yapılan uygulamalar sonucunda selekoksibin de diklofenak kadar ülser komplikasyonu oluşturduğu, ancak ibuprofenden daha iyi olduğu FDA tarafından bildirilmiştir (61).

Son zamanlarda COX-2 inhibitörlerinin renal ve kardiyovasküler güvenilirliği ile ilgili yapılan çalışmalar önem kazanmıştır. COX-2 enzimi böbreklerde zaten yapısal olarak bulunduğu için renal fonksiyonlar üzerine, COX-2 inhibitörleri şaşırtıcı bir şekilde COX-1 ve COX-2 inhibitör etki gösteren klasik NSAİ ilaçlarla aynı etkiyi gösteriyor olabilir (72). Klinik çalışmalarda selekoksib ve rofekoksibin klasik NSAİ ilaçlarla benzer şekilde üriner prostaglandin atılımında, glomerüler filtrasyon oranında, sodyum tutulumunda ve periferik ödem oluşumunda kalitatif değişiklikler oluşturduğu bildirilmiştir. Selektif COX-2 inhibitörü ya da nonselektif NSAİ ilaç kullanan hastalarda renal hasar oluşum riski benzer bulunmuştur. NSAİ ilaçlarla renal hasar oluşum riski, diüretik kullanımı, dehidratasyon, konjestif kalp

yetmezliği, hepatik yetmezliği olan hastalarda ve yaşı hastalarda artmaktadır (72).

Yine son yıllardaki çalışmalarda kolon tümörlerinde COX-2' nin varlığının saptanması, kolon kanserlerinde selektif COX-2 inhibitörü ilaçların koruyucu etkisini gündeme getirmiştir. Ancak kardiyovasküler risk nedeniyle bu yöndeki çalışmalar durdurulmuştur (165).

II.4.1. COX-2 İnhibitörleri

şu andaki bütün NSAİ ilaçlar COX-1 ve COX-2' enzimlerine farklı derecelerde selektivite göstermektedirler. İki izoformun relatif etkileri COX-1 ve COX-2 için IC₅₀' nin oranı olarak tanımlanmıştır ve test sistemlerine bağlı oran olarak verilmiştir. NSAİ ilaçların enzim selektivitesi azalmış yan etkili, düşük riskli NSAİ ilaç kullanımı bakımından önemlidir.

Halen kullanılmakta olan COX-2 enzim inhibitörü ilaçlar :

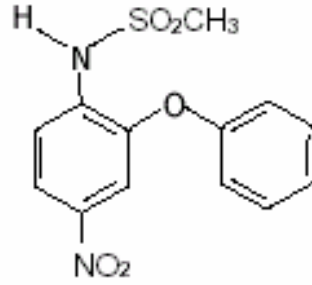
1. COX-2' ye selektif olanlar (nimesulid, meloksikam, etodolak),
2. COX-2' ye spesifik olanlar (selekoksib, rofekoksib),

olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır. COX-2' ye selektif inhibitörler yüksek dozlarda COX-1' i inhibe edebilmelerine karşın düşük dozlarda COX-2' ye spesifiklik göstermektedir. COX-2' nin spesifik inhibitörleri ise klinikte kullanıldıkları maksimum dozlarda bile COX-1' i inhibe etmediği kabul edilen inhibitörlerdir (92).

II.5. Nimesulidin Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

Nimesulid (4-nitro-2-fenoksislfonanilid) antipiretik ve analjezik özelliklere sahip nonsteroidal antiinflamatuvar (NSAİ) bir ilaçtır. Bileşik zayıf asidiktir (pKa=6.5) ve diğer NSAİ ilaçlardan farklı olarak kimyasal yapısında asidik grup olarak bir metanslfonanilid grubu içerir. COX-2 inhibitörü ilaçlar

içerisinde aril heteroarileterler grubunda yer alır (47,129,138). Romatoid artrit, osteoartrit ve akut inflamasyonlu hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaç, düşük gastrointestinal yan etkiler göstermekte ve genellikle iyi tolere edilmektedir (23,47,94). Nimesulid, iskelet-kas hastalıkları, baş ağrısı, jinekolojik ve ürolojik problemler, vasküler hastalıklar, postoperatif travmalar, kanser ağrıları, solunum yolu inflamasyonları gibi rahatsızlıklarda kullanılmaktadır (16).



Şekil 4: Nimesulidin kimyasal yapısı

Nimesulid selektif COX-2 inhibitörü NSAİ bir ilaçtır, ancak aynı zamanda terapötik dozlarda COX-1'e karşı da bir aktiviteye sahiptir. Bu özelliği, diğer COX-2 inhibitörleri ile karşılaştırıldığında nimesulidin yüksek gastrik uyuncunu iyi bir şekilde açıklamaktadır (23).

NSAİ ilaçların terapötik etkileri, büyük oranda COX' ların inhibisyonu yoluyla prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile ilişkilidir. Ancak bu etkiler gastrointestinal intoleransa neden olan gastroprotektif prostaglandinlerin inhibisyonundan da sorumludur. İn vitro olarak nimesulid, prostaglandin sentezinin inhibisyonunda oldukça zayıftır ve etkileri değişik mekanizmalarla ortaya çıkıyor gibi görünmektedir. Bu ilacın etki mekanizması oldukça kompleks görünmekte ve belki COX' lardan başka diğer enzimler, reaktif

oksijen türleri, sitokinler, trombosit aktive edici faktör ve histamin gibi mediyatörlerle etkileşebileceği düşünülmektedir (15,16,47).

Nimesulidin prostaglandin sentez inhibisyonu aktivitesi oldukça zayıftır. Etkilerinin oluşumunda trombosit aktive edici faktör sentezinin inhibisyonu, sitokinlerin salıverilişinin inhibisyonu, hipoklorik asitin tutulması, metaloproteaz sentezinin inhibisyonu, histamin salıverilişinin inhibisyonu, fosfodiesteraz 4 aktivitesinin inhibisyonu gibi farklı mekanizmaların rolü olduğu düşünülmektedir (47). Nimesulid ayrıca polimorfonükleer lökositler ile süperoksit radikali oluşumunu ihhibe eder. Facino ve arkadaşları nimesulidin doğrudan serbest radikal tutucu aktivitesini göstermişlerdir (58). Nimesulid çoklu doymamış yağ asitlerinden hidrojen çıkışını artırarak membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu yoluyla hücre hasarına yol açan hidroksil radikali (OH^{*}) ile selektif olarak etkileşerek koruyucu antioksidan rol oynamaktadır (23,47,57).

II.6. Farmakokinetik Özellikler

II.6.1. Absorpsiyon ve Dağılım

Nimesulid gastrointestinal kanaldan oldukça hızlı absorbe olur. Sağlıklı yetişkinlere nimesulidin 50-200 mg'lık tabletlerinin oral uygulanmasından sonra ortalama maksimum plazma konsantrasyonları 1.98 mg/L ile 9.85 mg/L arasında değişmektedir. Bu konsantrasyonlara ulaşma süresi 1.67 ile 3.17 saat arasındadır. Benzer sonuçlar granül ve süspansiyon formülasyonları için de elde edilmiştir (16). Rektal formülasyonlarda 100-200 mg nimesulid uygulandığında ise plazma konsantrasyonu daha düşük çıkarken (2.14-2.32 mg/L) t_{max} süresi uzamıştır (3-4.58 saat). 100 mg'lık tabletlerin besinlerle alınması açlık durumunda alınmasıyla karşılaştırıldığında C_{max} değerleri % 21

daha düşük çıkmıştır. Ancak besinlerin absorpsiyona etkisi sınırlı bulunmuştur (47).

Nimesulidin 100 mg'lık tabletlerinin 7 gün süreyle günde 2 kez oral uygulanmasından sonra C_{max} değerleri 3.11 mg/L ile 2.86 mg/L olarak hafifçe yükselmiş olarak gözlenirken t_{max} değerleri (2.67 ile 2.63 saat) ilk doz uygulamasından sonraki değerler ile benzerlik göstermiştir (47).

Nimesulid diğer NSAİ ilaçlarda olduğu gibi plazma proteinlerine % 99 oranda bağlanır (19,26). Bağlanma doygunluğu artan dozlarla değişmez. Albüminin bağlanma yerlerinin çoğuna diğer ilaçlar da bağlanabildiği için klinik olarak anlamlı farmakokinetik ilaç etkileşmeleri olur. Ancak renal hasarlı, hepatik sirozlu ve hipoalbuminemili hastalardan alınan örneklerde plazma proteinlerine bağlanma oranı düşer ve albümin konsantrasyonu ters orantılıdır (26). Nimesulid, doku kompartmanlarından daha çok ekstraselüler sıvı kompartmanlarda dağılmış olarak yer alır (19).

II.6.2. Metabolizma ve Eliminasyon

Nimesulid, çeşitli mekanizmalarla hızlı ve büyük ölçüde biyotransformasyona uğrar. İlacın büyük bir kısmı karaciğerde metabolize edilir. Temel oksidatif metaboliti 4-OH nimesuliddir. Bu metabolit sülfid ya da glukronit konjugatı şeklinde böbrek yoluyla ya da safrayla atılır. İlacın biyotransformasyonunda nitro grubunun indirgenmesi, aromatik amin oluşması nedeniyle toksikolojik açıdan önemlidir. Amin metaboliti N-asetilasyonla daha ileri metabolizma sonucu sülfid ya da glukronit konjugatı şeklinde atılmaktadır. Karaciğerde reaktif metabolitlerin oluşumu nimesulidle görülen advers hepatik reaksiyonlarda önemli rol oynayabilir. Özellikle nitro redüktif yolak güçlü reaktif türlerin oluşumuna neden olur. Oluşan reaktif ara ürünler

oksidoredüktif strese ve /veya hedef proteinlere kovalent olarak bağlanmaya neden olurlar (23).

Aromatik nitro bileşiklerinin intraselüler oksidatif strese neden oldukları in vitro olarak gösterilmiştir. Bunun nedeni aromatik nitro bileşikleri nitro redüktazlarla katalizlenen bir ya da iki elektron transfer yolları ile indirgenmeleridir. Bir-elektron transfer yolağı yüksek reaktiviteye sahip nitro radikali oluşturur; bu da aerobik koşullarda moleküler oksijene elektron transfer ederek süperoksit radikalini oluşturur. Bu süperoksit radikalinin oluşumu in vitro olarak gösterilmiş olmasına karşın in vivo olarak gösterilememiştir. Bunun nedeni olasılıkla hızla otooksidasyon sonucu ana bileşiğe dönüşümü olabilir.

İki-elektron transfer yolağı hidroksilamin ve nitrozo ara metabolitleri ile birlikte amin oluşumuna neden olur. Hidroksilamin ve nitrozo ara ürünler elektrofilik, protein reaktif ürünlerdir ve glutasyon tüketimine neden olarak proteinlerle kovalent eklenti oluştururlar. Aromatik amin ve N-asetilkonjugatı nimesulidin temel metabolitleridir. Buna karşın hidroksilamin ve reaktif nitrozo ara ürünleri kısa yarılanma ömürlerine sahip olmaları ve kolayca indirgenmeleri nedeniyle in vivo olarak gösterilmemişlerdir (23).

Tekrarlanan doz uygulamaları, tek doz uygulamaları ile karşılaştırıldığında farmakokinetik profilinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (121). Tek doz oral 200 mg nimesulid uygulamasından sonra ilacın yalnızca % 1-3' ü değişmeden idrarla atılmış, metabolitleri ise % 70 idrarla, % 20 feçesle serbest ya da konjuge formda atılmıştır. İlacın büyük bir kısmı 4-hidroksinimesulide metabolize olmaktadır ve antiinflamatuvar aktiviteden bu bileşiğin sorumlu olduğu düşünülmektedir. 4-

hidroksinimesulidin C_{max} değerleri 0.84-3.03 mg/L ve pik konsantrasyonlarına ulaşma süresi 2.61-5.33 saattir (58).

Hepatik sirozlu ve renal hasarlı hastalarda nimesulidin atılımının değişebileceği ve hem nimesulid hem de 4-hidroksinimesulidin birikebileceğine ilişkin çalışmalar vardır. Bu yüzden ciddi hepatik ve renal yetmezliği olan hastalarda kullanılmasının riskli olacağı bildirilmiştir (19,121).

II.7. Farmakolojik zellikleri

II.7.1. Antiinflamatuvar Aktivite

Polimorfonükleer lökositler inflamasyon alanında aktive edildiklerinde, süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit ve hipoklorik asit gibi toksik oksijen metabolitlerinin arttığı belirlenmiştir (146). Oksijen radikalleri normal olarak mikroorganizmalara karşı koruma yapsalar da, aşırı ve uygunsuz lökosit yanıtı inflamasyon alanında akut doku hasarı ile sonuçlanabilir. Oksijen radikalleri, özellikle hipoklorik asit, bazı biyolojik moleküllerle çok hızlı reaksiyona girebilir ve polimorfonükleer lökositlerle oluşan inflamasyon ve doku hasarından sorumludur. Oksijen radikallerinin romatoid artrit, beyin ve miyokard reperfüzyon hasarı gibi değişik hastalıkların patojenezinde rol aldığı dşnlmektedir (159).

Oral ED_{50} değerleri göz önüne alındığında nimesulid, sıçanlarda karragenine bağlı pençe demi, kobaylarda UV ışığa bağlı eritem gibi standart hayvan modellerinin kullanıldığı inflamasyon çalışmalarında indometazinden 3-4 kez daha güçlü bulunmuştur (172). Ayrıca nimesulid, sıçan karragenin ödemi ve adjuvan artrit testlerinde indometazin, diklofenak ve piroksikam ile benzer etkinliğe sahip bulunmuştur (47).

II.7.2. Analjezik ve Antipiretik Aktivite

Çocuklarda nimesulidin granüle ve supozitivar formülasyonlarının yetişkinlere göre daha hızlı emilmesi, preparatın ateş düşürücü olarak daha hızlı etki göstermesi (47) ve aspirinin Reye sendromuna neden olması, nimesulidin bazı ülkelerde daha çok tercih edilmesine neden olmuştur (1,47).

Çocuklarda yapılan bir çalışmada nimesulid ve parasetamol süspansiyonları kullanılmış, sonuçta nimesulidin parasetamolden daha hızlı ve daha uzun süre ateş düşürücü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca nimesulidin naproksen, aspirin, ketoprofen ve mefenamik asit ile karşılaştırıldığı çocuklarda yapılan çalışmalarda en az bu sayılan ilaçlar kadar ya da onlardan daha etkili olduğu bildirilmiştir (73).

Nimesulidin analjezik aktivitesi, sıçanlarda asetik asit kullanılarak uygulanan acı testlerinde indometazin, diklofenak ve piroksikamın gösterdiği aktiviteyle benzerdir, fakat benzokinon ile farelerde yapılan testlerde bu bileşiklerin gösterdiği aktiviteden daha düşüktür (24).

Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu rahatsızlığı olan 65 yaşın üzerindeki 39 hastada 200 mg nimesulid ve 500 mg parasetamol supozitivarları vücut ısısını anlamlı oranda azaltmıştır (44).

II.7.3. Terapötik Etkinlik

Karşılaştırmalı çalışmalarda nimesulid plasebodan çok daha etkili bulunmuştur. Dejeneratif artrit ve osteoartrit semptomlarını azaltmada piroksikam kadar etkili bulunmuştur. Genellikle 200 mg/gün uygulamalarında benzidamin, naproksen, ibuprofen, ketoprofen, mefenamik asit ve suprofenin kullanıldığı solunum yolu enfeksiyonları, kulak burun boğaz hastalıkları, dismenore, dental müdahale, ürogenital sistem hastalıkları, kas-iskelet

hasarlarındaki klinik semptomları azaltmada bu ilaçlar kadar ya da onlardan daha etkili bulunmuştur (22,47,59,157,187).

II.8. Çocuklardaki Kullanımı

Nimesulid ile ilgili çalışmalar, ilacın ateş düşürücü etkisinin üst solunum yollarıyla ilgili inflamatuvar semptomların ve çeşitli orijinli ağrıların giderilmesinde çocuklarda en az mefenamik asit ve parasetamol kadar etkili olduğunu göstermektedir (184). İlaç, granül, supozituar ve süspansiyon olarak uygulandığında çocuklarda viral ya da bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkili solunum yolu inflamasyonlarında postoperatif ağrı ve kas-iskelet hasarlarında çok sayıda karşılaştırmalı çalışma ile değerlendirilmiştir. Diğer NSAİ ilaçlar ve parasetamol ile karşılaştırıldığında nimesulid, genellikle ateş düşürmede ve solunum yolu inflamasyonlarıyla ilişkili belirti ve semptomlarda daha hızlı etki göstermiştir. Postoperatif ağrı ve kas-iskelet ağrılarında çocuklarda oral ve rektal uygulamaları parasetamol ve ketoprofen ile benzer yararlılık göstermiş, ağrıyı azaltmada plasebodan çok daha etkili bulunmuştur (47,73,98).

II.9. Uyunc

Nimesulid, genel olarak bütün hastalarda iyi tolere edilebilen bir ilaçtır. Diğer NSAİ ilaçlara intoleransı olan, astımlı ya da aspirine duyarlı kişilerde iyi tolere edilmiştir (8,21,153). Yaşlılarda yan etki sıklığı gençler ile karşılaştırıldığında artış göstermemiştir (121). Zayıf asit yapılı olması oldukça iyi gastrik tolerabiliteye sahip olmasıyla ilişkili bulunmuştur. Asidik NSAİ ilaçların yüksek konsantrasyonları mideden daha çok absorbe oldukları için gastrik mukoza ve submukozada birikebilir. Bu ilaçların çoğu nimesulidden daha asidiktir (16,97). Nimesulid ile ilgili 15 güne kadar olan kısa süreli ya da

3 aydan 12 aya kadar olan uzun süreli çalışmalarda anlamlı ölçüde orta derecede ya da ciddi gastrointestinal yan etkilere rastlanmamıştır (47,52).

Nimesulidin, yaşlı ve çocuklarda yapılan çalışmalarda laboratuvar parametrelerinde anlamlı değişikliklere yol açmadığı rapor edilmiştir (184). Nimesulid granüllerinin günde 2 kez 100 mg verildiği bir çalışmada 133 hastadan 7' sinde karaciğer enzimlerinde (AST, ALT ve ALP) geçici ancak % 20' den fazla bir artış gözlenmiş, 2 hastada serum ürik asit düzeylerinde şüpheli artışlar gözlenmiştir (47).

Nimesulidin renal tolerabilitesi incelendiğinde günde 400 ve 600 mg alındığında iyi tolere edilebilir bulunmuştur. Nimesulid, sağlıklı genç gönüllülerde yapılan renal toksisite çalışmalarında düşük toksisite potansiyeline sahip bulunmuştur (42,170).

16 sağlıklı, gönüllü genç erkekte nimesulidin renal tolerabilitesi çalışılmış (7 gün; 400, 600 ve 800 mg/gün dozlarda), 800 mg/gün dozda nimesulid alan 2 kişide hafif renal toksisite gözlenmiş, 400 ve 600 mg/gün dozlardaki nimesulid çok iyi tolere edilmiştir (185).

II.10. Advers Etkiler

Hepatotoksik etkiler:

Nimesulid 1985' den beri tedavide kullanılmaktadır. Ancak bununla birlikte ilacın tedavide kullanımı ile karaciğer hasarı gelişimi arasındaki ilişkiyi vurgulayan vaka raporları bildirilmiştir. Karaciğer hasarının düzeyi her zaman çoklu ilaç tedavisi ve daha önceden var olan karaciğer hastalıklarıyla ilişkili bulunmuştur. İlaça bağlı hepatotoksitenin değerlendirmesi kesin yapılamamasına rağmen, nimesulidin de diğer NSAİ ilaçlar gibi karaciğer fonksiyon bozukluklarına neden olabildiği kabul edilmektedir. Nimesulid ile

ilgili bu tür raporların değerlendirmeleri ülkeden ülkeye de farklılık göstermektedir (101,138,152,181).

Nimesulid ile ilişkili ciddi karaciğer yan etkilerinin olduğu yayınlanmış vakalar incelendiğinde 3 tip özellik ortaya çıkmıştır:

1. Bazı hastalarda, sentrilobüler ya da panlobüler nekroz oluşmuştur. Bu hastalarda artmış serum AST ve ALT değerleri saptanmış, bazı hastalarda bilirubin düzeylerinde artma görülmüştür. Hasar histopatolojik olarak incelendiğinde intrahepatik kolestaz görülmüştür. Bazı hastalarda ise hasar hem hepatosellüler hem kolestatik olarak ortaya çıkmıştır (174).
2. Bu iki tip karaciğer hasarının varlığı cinsiyete bağlıdır. Örneğin bir çalışmada kadınlarda hepatosellüler nekroz görülürken, erkeklerde hafif intrahepatik kolestaz görülmüştür (182).
3. Hipersensitivite reaksiyonlarının tipik işaretleri çok az vakada ortaya çıkmıştır. Dolayısıyla nimesulide bağlı hepatik reaksiyonlar için immün mekanizma rol oynamıyor gibi görünmektedir (142).

İdiyosenkratik ilaç reaksiyonlarında çok sayıda faktör rol oynamasına karşın, bu kişisel faktörlerden çok azı bilinir. Detoksifikasyonda ve nimesulidin eliminasyonunda yer alan N-asetil transferaz da polimorfik bir enzimdir (65,142).

Çok sayıda çeşitli tek nükleotid polimorfizimli NAT1 ve NAT2' nin alel varyasyonları tanımlanmıştır. Genelde hızlı asetilleyiçi fenotipler, sülfonamidlerin reaktif metabolitlerinin toksik etkilerinden bireyleri koruyabilir. Ancak bu etki nimesulid için henüz çalışılmamıştır (171).

Karaciğerdeki nimesulid biyoaktivasyonu potansiyel protein-reaktif ara ürünler oluşturmakta ve oksidoredüktif stresi ortaya çıkarmaktadır. Diğer NSAİ ilaçlar gibi bu durum da nimesulid için bir dezavantajdır. Nimesulid, açıl glukronitler oluşturmamasına rağmen, nitroredüktif aktivasyona uğrayan aromatik nitro grupları taşımaktadır ve aromatik aminler veya diğer nitroaromatik bileşiklerin toksisitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (43,60,118,119).

Nimesulidi diğer NSAİ ilaçlardan ayıran özelliklerden biri nimesulidin güçlü bir fosfodiesteraz IV inhibitörü olmasıdır. Bu etki, TNF α sentezini inhibe etme yeteneği ile ilişkilendirilmiştir (91). Fosfodiesteraz IV inhibitörleri, TNF α sentezi inhibisyonunun yanısıra, NSAİ ilaçlar tarafından indüklenen enteropatiye karşı koruyucu etki gösterirler ve karaciğerde ciddi advers etkilere yol açan intestinal hasarı azaltabilirler (141).

Renal etkiler:

İnflamasyon bölgesinde COX-2 enziminin aktivasyonu sonucu proinflamatuvar prostaglandinler oluşurken, normal dokularda prostaglandin üretimi COX-1 aktivasyonu sonucu oluşur. NSAİ ilaçların uygulanmasıyla COX-1 enziminin inhibisyonu doku prostaglandinlerinin azalmasına neden olur ve gastrik ve renal mekanizmalarla ilgili yan etkiler meydana gelir. Renal prostaglandinler lokal mediyatörler olarak davranır ve hastalarda renal kan akışını ve glomerüler filtrasyon oranını sürdürmek için gereklidirler. COX-2 immünohistolojik olarak arter ve venlerin endotelial ve düz kas hücrelerinde lokalize olmuştur. Böylece renal perfüzyon ve glomerüler hemodinamiklerin düzenlenmesinde gerekli oldukları düşünülmektedir. COX-2 enziminin ciddi renal patolojilerde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu bulguların

artması selektif COX-2 inhibitörlerinin renal hasara neden olabileceği kuşkusunu yaratmaktadır (100).

Nimesulidin glomerüler filtrasyon oranını ve renal plazma akışını değiştirdiği bilinmektedir, bu da renal prostaglandin sentetaz üzerine etkili olduğunu düşündürmektedir. Uzun süreli nimesulid tedavisi sırasında PGE₂ atılımında % 50' den daha fazla bir azalma olduğu gözlenmiştir. Renal fonksiyonların sürdürülmesinde prostaglandinlerin vazodilatör sistem üzerindeki farklı etkileri sonucu, nimesulidin renal etkileri ortaya çıkıyor olabilir (168). Londra' da başlatılan nimesulid ile ilgili faz III çalışmaları, böbrekler üzerinde oluşturduğu toksik etkiler nedeni ile durdurulmuştur (100).

NSAİ ilaçların kullanımından sonra akut renal yetmezlik, renal kardiyak ve hepatik fonksiyon bozukluğu olan hastalarda daha sıklıkla görülmektedir. Bu yüzden nimesulid ve diğer NSAİ ilaçların kullanımı sırasında doktorların hastalarını dikkatle izlemesi oldukça önem taşımaktadır (100,153).

Bir başka çalışmada ise sıçanlarda, 9 mg/kg' a kadar olan oral dozdaki nimesulid uygulaması sonrasında idrarda PGE₂ konsantrasyonları ve böbrek fonksiyon parametrelerinde değişiklikler gözlemlenmemiştir (33).

Gastrointestinal sistem üzerine etkiler:

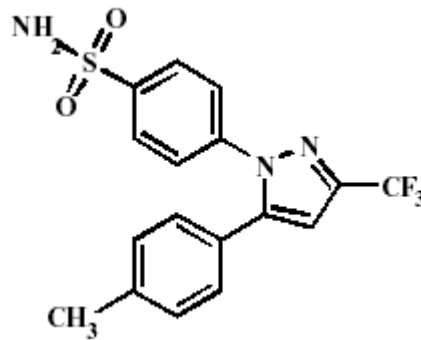
NSAİ ilaçların prostaglandin sentezi üzerindeki inhibitör etkileri aracılığıyla gastrointestinal mukozal hasara yol açtıkları kabul edilmektedir. Nimesulid ise diğer klasik NSAİ ilaçlardan daha az gastrointestinal etkili bulunmuştur (22,47). Piroksikam, ibuprofen ve indometazine göre daha düşük oranda ülserojeniktir (173). Ayrıca nimesulidin ülser oluşturulmuş hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda akut gastrik ülser oluşumunu anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir (6).

Hematolojik etkiler:

Nimesulidin oral tek dozu ve günde tek doz 5 günlük tekrarlanan uygulamalarından sonra, ADP, araşidonik asit ya da kollajene bağlı in vitro trombosit agregasyonu değerlendirilmiş, tek ya da tekrarlanan dozlarda trombosit aktivasyonunu kontrole göre % 50 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir. Ağrı ve inflamasyonu inhibe eden, ateşi düşüren dozdan daha düşük dozda antiagregasyon aktiviteye işaret eden bu sonuçlara rağmen, ilacın hemorajik komplikasyonlarına ilişkin hiçbir klinik veri bulunmamaktadır (32,183).

II.11. Selekoksib'in Kimyasal Yapısı ve Etki Mekanizması

Selekoksib, 4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il] benzen-sulfonamid kimyasal yapısına sahip analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar aktiviteye sahip bir ilaçtır. Spesifik COX-2 inhibitörü ilaç grubunun ilk üyelerindendir. Özellikle romatoid artrit ve osteoartrit tedavisinde, postoperatif ağrılarda sıklıkla tercih edilen bir ilaç olmuştur. Selekoksibin etki mekanizması COX-2 enzimini inhibe etmesine bağlı olarak prostaglandin sentezinin inhibisyonu sonucu oluşur, terapötik dozlarda ilaç COX-1 üzerine etkili değildir. Bu nedenle de daha az yan etkiye sahiptir (92).



Şekil 5: Selekoksibin kimyasal yapısı.

İn vitro analizler, selekoksibin COX-2 enziminin ve COX-2 aracılığı ile oluşan prostaglandin sentezinin kuvvetli inhibitörü olduğunu doğrulamıştır (41). İn vivo çalışmalar, birçok hayvan modelinde antiinflamatuvar etkisini kanıtlanmış ve iyi bir gastrointestinal güvenilirlik profiline sahip olduğunu göstermiştir. İn vitro veri ve hayvan modellerinin insanlardaki terapötik uygunluğu tam olarak doğrulanmasa da, daha önceki geleneksel NSAİ ilaçlarla yüksek dozlarda oluşan GI toksisitenin COX-2 spesifik inhibitörü olan selekoksib ile daha az oluştuğu kabul edilebilir bir yaklaşımdır (41).

Selekoksib artrit ağrılarında vücutta belirli bir enzimi hedefleyerek çalışır. Çoğu analjezikler COX-1 ve COX-2 enzimlerini bloke ederek etki ederler. Seleksibin hedeflediği enzim COX-2' dir. COX-2 ağrı ve inflamasyona neden olan anahtar enzimdir. Seleksib akut ağrılar, cerrahi girişim sonrası dental ağrılar, menstrüel kramplar, yetişkinlerde ostroartrit ve romatoid artrit semptomlarını hafifletmek ve Familial (Ailesel) Adenomatöz Polipozis'li hastalarda kolorektal polipleri azaltmak için kullanılır (41,180).

II.12. Farmakokinetik Özellikler

II.12.1. Absorpsiyon ve Dağılım

Oral yolla alındıktan ortalama 2 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşılır (130). Seleksibin biyoyararlılığı henüz kesin olarak saptanmamıştır. Klinik olarak ilacın aç olarak alınması ya da besinlerle birlikte alınması farmakokinetik özelliklerinde istatistiksel farklılıklara neden olmamıştır (67).

Çoğu geleneksel NSAİ ilaçlar gibi, seleksib de en fazla albümin olmak üzere yüksek oranda proteinlere bağlanır (> % 97). Dokular içinde geniş bir dağılım hacmine sahiptir (131).

II.12.2. Metabolizma ve Eliminasyon

Selekoksib büyük oranda sitokrom P450 2C9 enzimi ile metabolize edilir. İnsan plazmasında, alkol, karboksilik asit ve bunların glukuronid konjugatları olarak üç metaboliti saptanmıştır. Bu metabolitler COX-1 veya COX-2 inhibitörleri olarak inaktiftirler (130).

Selekoksibin ortalama eliminasyon yarılanma süresi 11.5 saattir ve klerensi 30 L/h' tır. % 3' ten daha az miktarı değişmeden idrar ve feçes ile vücuttan atılır (130). Ancak cinsiyet göz önüne alındığında dişilerdeki eliminasyon süresinin erkeklerden daha uzun olduğu, dolayısı ile dişilerin aynı dozlara daha uzun maruz kaldıkları bildirilmiştir. İlacın ilk 24 saatteki itrahi erkeklerde yaklaşık % 81 iken dişilerde % 33 civarındadır. Erkeklerde ilacın % 98' i 48 saatte atılırken, dişilerde bu süre 96 saattir (131). Temelde metabolizma karaciğerde sitokrom P450 2C9 sistemi üzerinden meydana gelir, ayrıca P450 3A4' ün küçük bir rolü vardır (175). Metabolik transformasyon selekoksibin ilk metaboliti olan inaktif karboksilik asit metabolitine hidrosilasyon ve oksidasyon ile olur, fakat vücuttan atılan ürünün küçük bir miktarını oluşturur. Yaklaşık % 27' si idrar yolu ile atılmasına rağmen, vücuttan itrahi temel olarak % 57 oranında feçes yolu ile olur (130). İlacın metotreksat, varfarin, fenitoin ve tolbutamit gibi ilaçlarla etkileşiminin olmadığı bildirilmiştir (88,89). Flukonazol ve ketokonazol ile yapılan bir ilaç etkileşim çalışması, sadece flukonazolün selekoksib farmakokinetiğini etkilediğini göstermiştir (90).

II.13. Farmakolojik Özellikleri

II.13.1. Antiinflamatuvar ve Analjezik Etkiler

Selekoksisib rodent modellerinde diğer NSAİ ilaçlarla karşılaştırıldığında benzer antiinflamatuvar ve analjezik etkilere sahip bulunmuştur (41). 10 gün süreyle günde iki kez tekrarlanan dozda uygulanan ilaç, kronik inflamasyonlu artrit modellerinde lokal ödem oluşumunda azalma sağlamıştır. Ayrıca karragenine bağlı akut inflamasyon ve ağrı modelinde selekoksisibin oral tek dozda profilaktik uygulaması, pençe volumünü ve termal uyarana yanıtı azaltmıştır (132).

II.13.2. Terapötik Etkinlik

Çok sayıda klinik deneme programı ile yetişkinlerde selekoksisibin diz ve kalça osteoartritli hastalarda ve romatoid artritli hastalarda değerlendirmesi yapılmıştır. 24 haftaya kadar çift körlü plasebo çalışmalar ve aktif kontrollü çok merkezli çalışmalar, günde iki kez 50 ile 400 mg'lık plasebo ve/veya karşılaştırmalı NSAİ ilaç uygulanan çalışmalar yapılmıştır (68,70,163). Ayrıca ciddi postoperatif ağrılarda analjezik etkinliği ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır (41).

II.13.3. Selekoksisib' in Osteoartritteki Etkisi

Osteoartrit tedavisi için selekoksisibin etki ve güvenilirliği, 12 haftalık plasebo kontrollü bir çalışmada naproksen ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir (18). Osteoartritli 1003 hastada günde 2 defa alınan 50, 100 ve 200 mg'lık selekoksisib dozları karşılaştırılmıştır. Diz ve kalça osteoartriti için kullanılan WOMAC indeksi ile ağrı değerlendirilmiştir (14). Bu indeks ayrıca hastaların fonksiyonel durumlarını değerlendirmek için de kullanılır (192). Hastalarda selekoksisibin 50 mg'lık dozu suboptimal etkiyi

kanıtlamıştır, fakat bütün dozlar 2 ve 6 haftada plasebodan önemli derecede daha iyi sonuçlar ortaya çıkaran verilerle, plasebodan daha büyük bir ilerleme kaydetmiştir (18). Plasebo alan hastalarla karşılaştırıldığında, selekoksib alan hastaların fonksiyonel durumlarında önemli ilerlemeler olduğu gözlenmiştir (192). Selekoksibin kalça osteoartriti için kullanımını değerlendirmede yukarıdaki çalışmada olduğu gibi aynı dozların kullanıldığı 12 haftalık bir denemede 500 mg naproksen ve plasebo ile karşılaştırılmıştır ve 50 mg'lık dozda plasebodan daha iyi sonuçlar gözlenirken, 100 ve 200 mg'lık dozları ağrıya karşı naproksene kıyasla anlamlı derecede etkili bulunmuştur (70). 6 hafta süre ile yapılan iki çalışmada, günde bir defa alınan 200 mg'lık selekoksib dozu ile günde iki defa alınan 100 mg'lık selekoksib dozu arasında dizde oluşan osteoartrit tedavisine etkisi açısından hiçbir fark olmadığı gösterilmiştir (68).

II.13.4. Selekoksibin Romatoid Artritteki Etkisi

Selekoksib ve naproksenin romatoid artritli hastalardaki etki ve güvenliği yukarıda bahsedilen osteoartrit denemelerine benzer şekilde, plasebo kontrollü bir çalışma ile değerlendirilmiştir (163). Osteoartrit ve romatoid artrit denemeleri temelde selekoksibin kullanılan dozlarına göre farklılık gösterir. Romatoid artrit için günde iki defa alınan 100, 200 ve 400 mg'lık dozlar 500 mg'lık naproksen dozu ile karşılaştırılmış ve selekoksib, sayısal olarak tüm dozlarda daha üstün olmasına rağmen, selekoksib ve naproksen arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Hastaların plaseboya göre iyileşme süreci değerlendirildiğinde, selekoksib dozları ile iyileşme yüzdesi, önemli ölçüde daha üstündür ve 200 mg'lık selekoksib dozu naproksene göre daha üstün bulunmuştur. Uluslararası bir çalışmada, günde

2 defa alınan 200 mg'lık selekoksib uzun dönemli güvenilir romatoid artrit yöntemi için günde 2 defa alınan 75 mg'lık diklofenak SR ile karşılaştırılmış, 24 haftalık deneme boyunca, selekoksib diklofenak SR kadar sürekli etkili bulunmuştur (54).

II.13.5. Familial (Ailesel) Adenomatöz Polipozis'li (FAP) Hastalarda Seleksibin Etkisi

FAP, çok sayıda adenomatöz kolorektal polip formunda yıkıcı bir durumdur ve genellikle kanserle sonuçlanır. FAP nadir bir herediter hastalıktır ki, APC tümör baskılayıcı geni içindeki bir kusura bağlıdır ve genellikle cerrahi bir yöntemle tedavi edilir. Hayvan modelleri, bu durumda COX-2'nin rolü olduğunu gösterir (125). Seleksib son zamanlarda FAP tedavisi için önemli bir çalışma sonucuna bağlı olarak onay almıştır. Bu çalışmada, plasebo kolorektal poliplerde % 4.5'lik bir azalma sağlarken, seleksib günde 2 defa 400 mg dozda alındığında % 28'lik ciddi bir azalma sağlamıştır (169). Bu çalışmadaki hastaların % 50'sinden fazlasında poliplerde en az % 25'lik bir azalma görülmüştür. Bu sonuçlar önemli ve umut verici olmasına rağmen, bu çalışmanın kanser ya da cerrahi amaç için olmadığına dikkat etmek gerekir.

II.14. Advers Etkiler

Hepatotoksik etkiler:

Seleksibin günde iki kez 25' ten 400 mg' a kadar olan dozlarda hepatik tolerabilitesinin araştırıldığı 2 ile 12 haftalık bir metaanalizde 11000' den fazla artritli hasta kullanılmıştır. Terapötik dozlarda alınan ilacın, hastaların % 76' sında hepatik advers etki oluşum sıklığı plasebo ile benzer bulunmuştur. Naproksen (500 mg), diklofenak (günde iki kez 75 mg) ve

ibuprofen (günde üç kez 800 mg) ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda ise, bu ilaçların selekoksibden anlamlı derecede yüksek hepatik advers etkiler oluşturdukları saptanmıştır. 11 analjezik etki ve 7 cerrahi ağrı çalışmasında hepatik etki oluşum sıklığı selekoksib ve plasebo gruplarında benzer bulunmuştur (102).

NSAİ ilaçlarla yapılan bazı klinik çalışmalarda ise, NSAİ ilaç alan hastaların % 15' ine varan oranlarda bir ya da daha fazla karaciğer ile ilişkili enzimler için üst sınıra yükselmeler ve hastaların yaklaşık % 1' inde ALT ya da ASTde kayda değer yükselmeler (normalin üst sınırının yaklaşık 3 ya da daha fazla katı) bildirilmiştir. Devam eden tedavi sırasında bu laboratuvar anormallikleri ilerleyebilir, değişmeden kalabilir ya da geçici olabilir. Selekoksibi de içeren NSAİ ilaçlarla sarılık ve fatal fulminan hepatit, karaciğer nekrozu ve hepatik yetmezlik (bazılarının fatal sonuçları olan) de içeren ender ciddi hepatik reaksiyon vakaları bildirilmiştir (31,120,155,194). Selekoksib ile yapılan kontrollü araştırmalarda karaciğer testlerinin üst sınıra yükselme sıklığı, selekoksib için % 6 iken, plasebo için % 5 olmuştur; selekoksib alan hastaların yaklaşık % 0.2' sinde ve plasebo alan hastaların % 0.3' ünde ALT ve ASTde kayda değer yükselmeler mevcuttur. Ağır karaciğer yetmezliği olan hastalara ilişkin araştırma yapılmamıştır, bu hastalarda selekoksib kullanımı önerilmez.

Gastrointestinal sistem üzerine etkiler:

Birçok çalışmada selokoksibin NSAİ ilaçlar benzer oranda antiinflamatuvar ve analjezik etkinlikte olduğu ortaya konmuştur (6,99,162,163). Selekoksib romatoid artritli hastalarda semptomların

giderilmesi açısından naproksen ve diklofenak ile osteoartritli hastalarda ise naproksen ile eşit etkinliktedir (71).

COX-2 inhibitörlerinin asıl ortaya çıkış nedenleri olan gastrointestinal sistem yan etkilerinin az oluşu da klinik olarak çeşitli endoskopik çalışmalarda incelenmiştir. Bu çalışmaların birinde selekoksib (günde 2 kez 50-400 mg), naproksen (günde 2 kez 500 mg) ve ibuprofen (günde 3 kez 800 mg) 43 ay süre ile kullanılmış ve endoskopik sonuçlar değerlendirilmiştir. Selekoksib grubunda görünür ülser oranının diğer ilaç gruplarına göre anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir (163). Yapılan bu çalışmaların sonuçları COX-2 inhibitörlerinin hipotezini doğrulamıştır. Yani COX-2 inhibitörü ilaçlar analjezik ve antiinflamatuvar etki açısından en az NSAİ ilaçlar kadar etkin, bununla birlikte gastrointestinal sistem yan etkileri minimal olan ajanlardır. Ancak bu hipotezi kesin olarak kanıtlamak üzere Celecoxib Long-Term Arthritis Safety Study (CLASS) çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalarda da önerilen günlük dozların 2 katı kullanılmıştır (161).

Selekoksibin CLASS çalışmaları, klinik denemeler programında kanıtlanan, selekoksibin tolere edilebilirliğini ve güvenilirliğini uzatmak ve doğrulamak için dizayn edilmiştir.

Bu çalışmaya çoğunluğu osteoartrit tanısı konmuş (% 72' si) 8059 hasta alınmıştır (161). Hastaların % 68.5' i kadınlardan oluşmuştur. Çalışmanın iki alt grubu vardır. Bunların ilkinde 400 mg/gün selekoksibin etkinliği, 150 mg/gün diklofenak ile, ikinci grupta ise aynı doz selekoksib günde 3 kez 800 mg alınan ibuprofen ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada endikasyonu olan hastalarda 325 mg/gün aspirin kullanımına izin verilmiştir. Çalışma 13 ay sürdürülmüş olmakla birlikte sadece ilk 6 aylık sonuçları

yayınlanmıştır. Selekoksisib grubunda ilaç bırakımı % 12.6 iken (ağırlıklı olarak etki azlığı nedeniyle), bu oran NSAİ ilaç gruplarında % 14.8 olarak bulunmuştur (p=0.005). Çalışmada birincil sonlanma nedeni olarak tanısı doğrulanmış ülser komplikasyonu (perforasyon, obstrüksiyon, üst gastrointestinal sistem kanaması), ikincil sonlanma nedeni olarak da semptomatik ülser ve ülser komplikasyonlarının toplamı dikkate alınmıştır. Bu çalışmada ilginç olarak birincil sonlanma nedeni açısından her üç ajan arasında herhangi bir fark saptanmamıştır (selekoksisib için % 0.68, diklofenak için % 0.62 ve ibuprofen için % 0.75, p>0.05). Ancak ikincil sonlanma nedeni açısından selekoksisib ile diğer iki ajan arasında bir anlamlılık bulunmuştur (% 2.08 ve % 3.54, p=0.02). Özetle CLASS çalışmasında ülser komplikasyonları açısından selekoksisib ile diğer NSAİ ilaçlar arasında fark gözlenmezken, semptomatik ülser sıklığının selekoksibe göre ibuprofen grubunda daha fazla olduğu saptanmıştır.

Günde iki defa alınan 100-200 mg'lık ya da günde 1 defa alınan 200 mg'lık bazı selekoksisib doz çalışmalarından toplanan veriler; karın ağrısı, diyare, dispepsi, gaz ve bulantı gibi bazı semptomların oluşum sıklığında selekoksisib ve plasebo arasında kayda değer bir farklılık olmadığını göstermiştir (41). Ayrıca bu yan etkilerin sıklığı naproksen, diklofenak ve ibuprofen ile karşılaştırıldığında bu ilaçlardan daha düşük bulunmuştur. Romatoid artrit hastalarındaki 6 aylık bir denemede, son endoskopideki gastroduodenal ülserli hastaların yüzdesi, günde 2 defa 200 mg alınan selekoksisib dozunda, günde 2 defa 75 mg alınan diklofenak SR de olduğundan daha düşük bulunmuştur (54). Fakat hastaların ülser durumu girişte bilinmemekteydi. Osteoartrit ve romatoid artrit hastalarında, günde 2

defa alınan 50, 100, 200 ve 400 mg selekoksib dozları ile günde 2 defa alınan 500 mg'lık naproksen dozları 12 haftalık endoskopi çalışmaları ile karşılaştırılmıştır (41,69). Tüm selekoksib gruplarının naproksen gruplarından önemli ölçüde düşük gastrointestinal toksisiteye sahip olduğu görülmüştür.

Bu çalışmaların bulguları selekoksibin diğer NSAİ ilaçlardan, endoskopik ülserler ile ilişkisinin daha az olduğunu göstermesine rağmen, bu veriler selekoksibin perforasyon ve kanama gibi daha az ciddi gastrointestinal durumlarda kullanıp kullanılmayacağını belirlemez.

Selekoksib kullanan hastaların hem önemli ölçüde daha düşük gastrointestinal kan kaybı sıklığı, hem de diklofenak ve ibuprofen kullanımı ile karşılaştırıldığında, artan gastrointestinal tolere edilebilirliği vardır. Artan kan kaybına yol açabilen gastrointestinal mukozanın permeabilitesini NSAİ ilaçların artırdığı gösterildiğinden, anemi kanama olmasa bile gelişebilir (46).

Kardiyovasküler sistem üzerine etkiler:

Kan basıncındaki artışın NSAİ ilaç kullanımı ile ilişkili olduğu ve NSAİ ilaçların bazı antihipertansif ilaç tedavisinde özellikle diüretiklerin etkisini zayıflatabildiği uzun zamandır bilinmektedir (85,148). NSAİ ilaç kullanan hastalarda artan konjestif kalp rahatsızlığı riskini doğrulayan Page ve Henry'nin makalesi ve COX-2'nin sistemik prostasiklin ana kaynağı olması, COX-2 inhibitörlerinin kardiyovasküler fonksiyon üzerindeki potansiyel etkilerini önemli bir konu haline getirmiştir (108). Ancak araştırmalar, selekoksib kullanımı ile diğer NSAİ ilaçlar arasında kardiyovasküler ve serebrovasküler olayların sıklığı açısından önemli farklılık olmadığını ortaya koymaktadır (180).

COX inhibitörleri ile ilgili çok az sayıda çalışmada bu ilaçların miyokard infarktüsü riskini arttırdığı ileri sürülmüşken (113,139), diğer birçok çalışmada COX inhibitörlerinin kardiyovasküler sistem üzerinde olumlu ya da olumsuz belirgin bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (103,161,188). Hatta bazı çalışmalarda COX-2 inhibitörü ilaç kullanımının kardiyovasküler sistem üzerinde olumlu etki gösterdiği ve toksisite riskini azalttığı ileri sürülmüştür (38,149,154).

Renal etkiler:

Selekoksib ile yapılan klinik araştırmalarda, diğer NSAİ ilaçlarla gözlenenlere benzer renal etkiler görülmüştür. NSAİ ilaçların renal ve kardiyovasküler fonksiyonu, prostasiklin gibi vazodilatör prostaglandinlerin inhibisyonundan kaynaklanan bir pressör etki yolu ile olduğu kanıtlanmıştır (108). Renal yetmezliği olan veya kardiyovasküler hastalık riski taşıyan daha yaşlı hastalarda bu etkiler özellikle önemlidir. COX-2 temel olarak böbrekteki damarsal yapılarda ve meduller interstisyel hücrelerde bulunmaktadır. Bu bölgelerdeki yoğunluğu yaşla doğru orantılı olarak artmaktadır. Bunun aksine COX-1 toplayıcı kanallar ve Henle Kulbunda bulunmaktadır. Her iki enzim ortak olarak damarsal yapılarda bulunur. Böbrekte COX-1 ve COX-2 aracılığı ile ortaya çıkan PGE₂, böbrek kan akımını artırıp su ve tuz emilimini azaltır. Bu nedenle enzim inhibisyonuna neden olan NSAİ ilaçlar su ve tuz tutulumuna, kreatin yükselmesi ve hipertansiyona yol açabilir (39,81,108). Seleksibin sodyum ve potasyum retansiyonuna sebep olduğu öne sürülmesine rağmen, bazı çalışmalardan elde edilen sağlıklı erkek verileri seleksib için yaşlı kesimde bile onaylanan renal güvenlik profilini gösterir (28).

CLASS denemeleri, selekoksibin yüksek dozları kullanılarak, selektif COX-2 inhibisyonu ile renal yan etkiler sıklığının yükselmediğini göstermiştir. Aslında ödem ve periferik ödem olarak ayrılan hipertansiyon sıklığı ibuprofen grubu ile karşılaştırıldığında selekoksib grubunda önemli ölçüde daha düşüktür. Ek olarak, sağlıklı orta yaş grubu hastalarda uygulanan bir çalışmada ve CLASS denemesinden elde edilen verilerde selekoksibin renal fonksiyon üzerinde diklofenak ve ibuprofenden daha az etkiye sahip olduğunu gösterir (161).

Kuzey Amerika' daki klinik denemelerde 65 yaş ve üzeri ile 65 yaşından küçük hastaların alt grup analizleri, selekoksibin her iki yaş grubundaki hastalarda eşit derecede etkili olduğunu göstermiştir. Genç hastaların selekoksibi daha iyi tolere edebilmelerine karşın, plasebo grupları ile selekoksib arasında, ve selekoksib alan genç ve yaşlı gruplar arasında önemli bir farklılık yoktur. Aktif olarak kontrol edilen denemelerde, genç nüfus ile karşılaştırılan yaşlı nüfusun tolere edilebilirliğinde hiçbir azalma yoktur (180).

Selektif COX-2 inhibitörlerinin klasik NSAİ ilaçlar gibi renal sendromlara neden olduğuna ilişkin bazı toksisite vakaları da bildirilmiştir. Selekoksibin, COX-2 enzimi tarafından sentezlenen vazodilatör prostaglandinleri inhibe etmesi ve akut tübülointerstisyel nefrit oluşturması nedeni ile akut renal hasar gelişimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanılmaması ya da bu ilacın çok dikkatli kullanılması, hastanın doktor gözetiminde tutulması önerilmektedir (3,27,56,82,105,124,133,134).

Hematolojik etkiler:

Trombositlerde prostanoid oluşumu genel olarak COX-1 üzerinden olduğu için, COX-2 inhibisyonunun trombosit fonksiyonları üzerine ya hiç etkisinin olmadığı ya da minimal etkisinin olduğu düşünülmektedir. Ancak klasik NSAİ ilaçların gastrointestinal hasara katkıda buldukları bilinmektedir. Bu konu üzerinde yapılmış çalışmalarda normal bireylere klinik dozun çok üzerinde selekoksib dozu (600 mg/gün) 10 gün süreyle verilmiş ve trombosit fonksiyonları in vitro olarak naproksen verilen bireylerle karşılaştırılmıştır (99,162). Çalışma sonucunda selekoksib verilen grupta kanama zamanı ve trombosit fonksiyonlarında herhangi bir değişme gözlenmezken, naproksen grubunda kanama zamanında belirgin uzama ve trombosit adezyon ve agregasyonunda azalma saptanmıştır. Buna karşın, ibuprofen tek doz (800 mg) (108), aspirin 5 gün boyunca günde iki kez (650 mg) (162) ve naproksen 7 gün boyunca günde iki kez (500 mg) (99) dozda uygulanmış ve trombosit agregasyonunda anlamlı değişiklikler saptanmıştır. Ayrıca naproksen kanama zamanını da uzatmıştır.

Diğer yandan bazı klinik denemelerde selekoksib alan hastaların yüzde 0.1-2' sinde hematolojik yan etkiler (anemi) görülmüştür (67). Selekoksib ve varfarin alan hastaların rutin laboratuvar izlemeleri sırasında, protrombin zamanının uzadığı çok az sayıda vaka bildirilmiştir (156). Bu hastaların bazılarında kanamalar olduğu rapor edilmiştir (9,67). Aktif sistemik lupus eritematozuslu 2 hastada, selekoksib tedavisine başlandıktan hemen sonra iskemik olaylar görülmüştür (74,86,137).

II.15. Uyunç

Selekoksib, osteoartrit ve romatoid artritli hastalarda klinik çalışmalar sırasında iyi tolere edilmiştir. Yan etki sıklığı dozla ilişkili bulunmamıştır (41). 4146 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, 12 hafta boyunca günde iki kez 100 ve 200 mg'lık ve günde bir kez 200 mg dozu alan hastalar plasebo ile karşılaştırıldığında yan etkiler konusunda istatistiksel olarak benzer sonuçlar göstermişlerdir (67).

II.16. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma

II.16.1. Serbest Radikaller ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, moleköl ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Çoğu olayda serbest radikal üretimi, patolojik olayların bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotiğin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir (111).

Reaktif oksijen türleri normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot})'dir.

Reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin oluştuğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^{\cdot}), peroksit radikalleri (ROO^{\cdot}), alkoksil radikalleri (RO^{\cdot}), sülfenil radikalleri (RSO^{\cdot}) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (76).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$): Süperoksit radikali hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.

Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikalın asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali (HO_2^{\cdot}) oluşturmak üzere protonlanır.

Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleri ile reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.

Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO^{\cdot}) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO_2^{\cdot}), hidroksil radikali (OH^{\cdot}), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin (NO^{\cdot}) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (63,76).

Hidrojen peroksit (H_2O_2): Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.

Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekleşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir (4). Spontan dismutasyon pH 4,8' de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH' da daha belirgindir. Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe_2^+ veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH^*) oluşturur (80).

Süperoksit radikalının lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldur. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin olduğu yerden uzakta olan fakat Fe_2^+ içeren membranlarda hasar oluşturabilir (77,79).

Hidroksil radikali (OH^*): Her türlü hücresel bileşenle reaksiyona girme yeteneğine sahip güçlü bir radikaldir. Bu reaksiyonlar oksidan hasara neden olur ve kendi kendine çoğalan oksidan reaksiyonları başlatır (186). Hidroksil radikali Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldir, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali

olasılıkla reaktif oksijen türlerinin en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (76,77).

II.16.2. Hücrede ROS Kaynağı

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşabilir. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızarlar, moleküler oksijenle etkileşebilirler ve sonuçta serbest oksijen radikalleri oluşur.

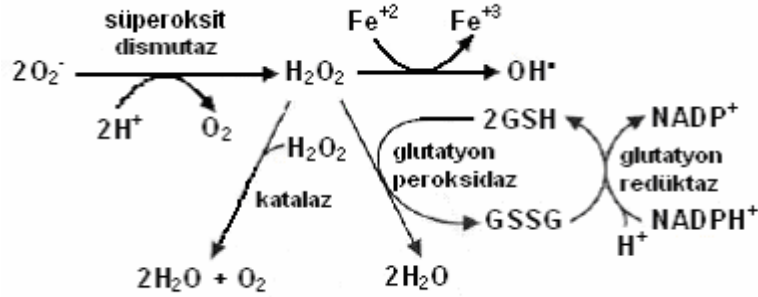
Araşidonik asit metabolizması da reaktif oksijen metabolitlerinin önemli bir kaynağıdır. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranından arşidonik asidin serbestleşmesine yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünleri meydana gelir.

Araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine "enzimatik lipid peroksidasyonu" denir. Serbest radikallerle prostaglandin metabolizması birbiriyle yakından ilişkilidir (4,76).

Aktive olmuş makrofajlar, nötrofiller ve eozinofillerde fagositik solunumsal patlama sırasında da çeşitli serbest radikaller oluşur.

Fagositin kendisi de reaktif oksidanların zarar vermelerine karşı hassastır. Bununla birlikte kendilerini oksidanlarına karşı koruyabilirler. Fagositlerin antioksidan sistemleri, süperoksidi hidrojen perokside dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD), hidrojen peroksidi suya indirgeyen katalaz (CAT), hidrojen peroksidi detoksifiye edici glutatyon peroksidaz-

glutasyon redüktaz sistemi, vitaminlerden α -tokoferol (vitamin E) ve askorbik asit (vitamin C) gibi antioksidanlardır (11) (Şekil 6).



Şekil 6: Antioksidan savunma sistemi

Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinden sızıntıdır. Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman mitokondriyal süperoksit radikal üretimi artar. Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklanır. (35).

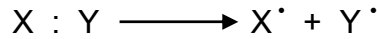
Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır, pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP' nin ATP' ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine

ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen peroksida indirgenmektedir. İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) oluşur (5,104).

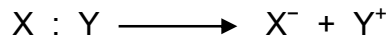
Bazı yabancı toksik maddeler hücrede serbest radikal üretimini artırır. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürürler.

Bir serbest radikal üç yolla ortaya çıkabilir (80):

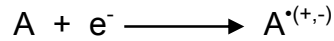
1) Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2) Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağ oluşturan her iki elektron, atomlardan birisinde kalır.



3) Normal bir molekülden tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.

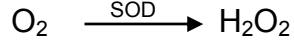


II.16.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu inflamasyon, radyasyon, yaşlanma, normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (pO_2), ozon (O_3) ve azot dioksit (NO_2^{\cdot}), kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar.

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler.

$O_2^{\bullet-}$ ve OH^{\bullet} sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran permeabilitesi artar (45,76).



Katalitik demir iyonları varlığında; $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 etkileşerek (Haber-Weiss reaksiyonu) hidroksil radikali üretirler. H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ yokluğunda "Fenton reaksiyonu" ile diğer maddelerden OH^{\bullet} üretebilir (Ör; askorbat). Fe^{+3} ü Fe^{+2} ye indirger. $O_2^{\bullet-}$ ve OH^{\bullet} , proteinlere, poliansatüre yağ asitlerine saldırır, enzim inaktivasyonuna ve lipid peroksidasyonuna neden olur.

Serbest radikaller hücrede sarkolemma, sarkoplazmik retikulum ve ekstrasellüler kollajen matriks gibi organellerde bozukluklar oluşturur. Bunları takiben kalsiyuma bağlı mekanizmalarda bozukluklar oluşur. Serbest sitozolik kalsiyumun artışı protein kinazları, fosfolipazları ve diğer yıkıcı enzimleri aktive eder ve hücreler arası hasarın artmasına yol açar. Aşırı kalsiyum yüklenmesi, oksijen radikalleri ile başlayan hasarı artırır. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğer amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur (75).

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı olur. Hücrede reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedenidir. İskemi sonrasında reperfüzyon da reaktif oksijen türlerinin artışına bağlı olarak iskeminin oluşturduğu hücre hasarını artırır.

II.16.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, organizmanın prooksidanları ile antioksidan sistemleri arasındaki dengenin prooksidanlar yönünde bozulmasıdır. Organizmada hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırıldan daha fazla reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır.

Oksidatif stresi meydana getiren 3 ana kaynak vardır (160):

1. Endojen ve/veya eksojen kaynakların aşırı aktivitesi sonucu hücredeki oksidan yükün aşırı artması,
2. Antioksidanların diyetle alımında önemli düzeyde azalma olması,
3. Hücredeki radikal oluşum oranı ile hücrenin antioksidan düzeyleri normal sınırlarda olmasına rağmen, aradaki dengenin radikaller lehinde bozulması.

Hücreler, karşı karşıya kaldıkları orta düzeyde oksidatif hasarı antioksidan savunma sistemlerinin kapasitesini artırarak tolere edebilirler. Yüksek düzeyde oksidatif stres karşısında ise DNA hasarı, hücre içi serbest kalsiyum ve demir düzeyinde artma, proteinlerde (membranal iyon taşıyıcı proteinler de dahil) hasar ve lipid peroksidasyonu meydana gelir. Böylece oksidatif stres hücre hasarı ve hücre ölümüyle sonuçlanabilir. Oksidatif stresin farklı moleküler hedeflerde meydana getirdiği hasarın nisbi önemi, oluşan oksidatif stresin büyüklüğüne hangi mekanizma ile meydana geldiğine, süresine ve bu olaya maruz kalan sistemin karakterine de bağlıdır. Örneğin aterosklerotik hastalıklarda oksidatif stresin önemli bir sonucu lipid peroksidasyonudur, ama diğer bazı durumlarda DNA veya protein hasarı daha önemli olur. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik araştırmaların odağı haline gelmiştir (76,160).

Oksidatif stresin, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarıyla birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunduğu düşünölmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, müsköler distrofi, romatoid artrit, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diabetes mellitus, akut renal yetmezlik, Down sendromu, yaşlanma, serebrovasköler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumların patogenezinde oksidatif stresin rolünden söz edilmektedir (75,76,79,160).

II.16.5. Serbest Radikallere Karşı Hücresel Savunma (Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar)

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiğı hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler (122):

1) Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutar veya daha zayıf yeni moleküle çevirebilirler. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleköller bu tip etki gösterirler.

2) Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır veya inaktif şekle dönüştürürler. Vitaminler ve flavonoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki gösterirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onarırlar.

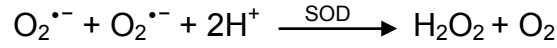
Organizmada pek çok türde reaktif oksijen türleri oluşabilir. Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehiddir (MDA). Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat ortaklanmamış elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle "reaktif oksijen türleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir. Oksijen molekülü, orbitalinde ortaklanmamış elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer reaktif oksijen türleri grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan "singlet oksijen" bulunmaktadır. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet ortaklanmamış elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (4,45).

Antioksidanlar, endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (45,49). Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Süperoksit dismutaz (SOD) 2) Glutasyon peroksidaz (GPx) 3) Katalaz (CAT) 4) Glutasyon S-Transferazlar (GST) 5) Glutasyon redüktaz 6) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi 7) Hidroperoksidaz.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Melatonin 2) Seruloplazmin 3) Transferrin 4) Miyogloblin 5) Hemogloblin 6) Ferritin 7) Bilirubin 8) Glutatyon 9) Sistein 10) Metiyonin 11) Ürik asit 12) Laktoferrin 13) Albümin.

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler (111).

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit dismutaz süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.



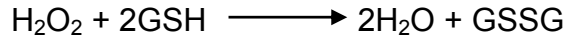
İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD' dır. SOD' ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri $O_2^{\bullet-}$ ' nin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD eksikliğinde $O_2^{\bullet-}$ ' nin dismutasyonu nonenzimatik olarak da yürütülür. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD' un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (107).

Endojen SOD' un katarakt (177), kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif hasarla ilişkili hastalıkların önlenmesinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (7). Romatoid artritte eritrosit SOD aktivitesinin düşük olduğu, serbest radikal oluşumunun anahtar rol oynadığı kabul edilen iskemi reperfüzyon hasarında SOD' un koruyucu rol oynadığı ve terapötik olarak

SOD kullanımının yararlı olabileceği bildirilmiştir (7). Ancak CuZn SOD fazlasının serbest radikal oluşum dengesini bozduğu, buna bağlı peroksidatif beyin hasarının gözlenebileceği, bu artışın yaşa bağlı nörolojik hasara neden olabileceği bildirilmiştir (76,109).

Cu-Zn SOD' un spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelere ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (107).

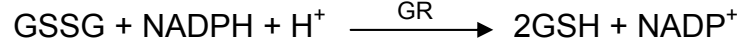
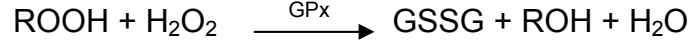
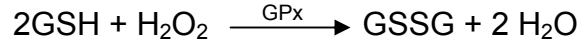
Glutasyon peroksidaz (GPx): Vücudun bütün doku ve hücrelerinde bulunmakla birlikte organlara göre farklılıklar göstermektedir. Hücre içinde sitoplazmada ve mitokondride daha yoğun olarak bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksidin (H_2O_2) detoksifikasyonunda ve ayrıca lipid hidroperoksidlerin detoksifikasyonunda görev alır. Koenzim olarak glutasyonu kullanır (40).



4 alt formu bulunan bir enzimdir. Fosfolipid hidroperoksid glutasyon peroksidaz adı verilen form monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger ve kolesterolü metabolize eder. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur. İntrasellüler form, sitozolik çözümlü form adıyla da bilinir (cGPx). Bu form ekstrasellüler form ve plazma çözümlü form ile birlikte H_2O_2 ve lipid hidroperoksidlerin metabolizmasından sorumludur.

GPx organik hidroperoksidler ve H_2O_2 ' e karşı aktiftir. İndirgenmiş glutasyonun oksidasyonunu kataliz ederek H_2O_2 ' i suya indirger. Aynı şekilde bir molekül glutasyon kullanarak biyomembranların oksidasyonu ile oluşan

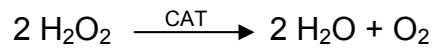
lipid hidroperoksitleri indirger. Oluşan okside glutatyon, NADPH bağımlı glutatyon redüktaz ile tekrar indirgenir.



GPx' ler selenyuma bağımlılıkları nedeni ile in vivo ve in vitro selenyum eksikliğinden oldukça etkilenirler. Biyosentezleri selenyuma bağlıdır. Karaciğer dokusu GPx' in en zengin kaynağıdır (40).

GPx' in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GPx eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GPx aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelere düşük bulunmuştur. Lökosit GPx aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur (107).

Katalaz (CAT): Yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Her alt ünite bir ferriprotoporfirin üretir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar, fakat daha büyük lipid hidroperoksitlere karşı etkisizdir.



Katalaz en çok peroksizomlarda bulunur. Peroksizomlar ise hücre içi H_2O_2 ' nin ana yapım yeridir. Katalazın işlevinin, hücreleri mitokondriyal oksidan hasardan korumak ve peroksizomal H_2O_2 ' in hasar yapmasını

önlemek olduğu sanılmaktadır. İnsan eritrositlerinde de GPx ile birlikte H_2O_2 yıkma görevindedirler (95).

Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan H_2O_2 ' yi, OH^{\cdot} oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (107).

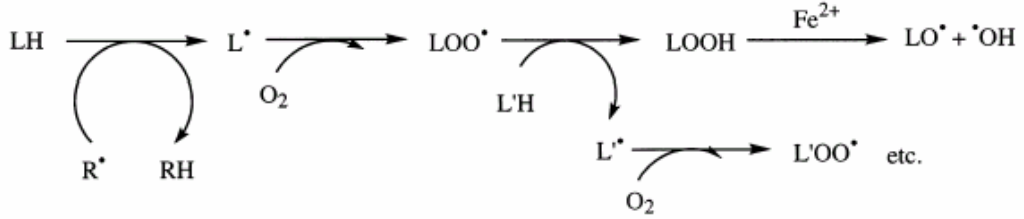
Glutasyon (GSH): Karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan ve organizmada en yaygın olarak bulunan bir tiyol bileşiğidir. Hemen tamamı indirgenmiş halde çok az bir kısmı ise okside halde (GSSG) bulunur. Hücre içindeki anahtar redükleyici ajan konumundadır. Glutasyon çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (110). Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Glutasyon yabancı bileşiklerin detoksifikasyonu ve amino asitlerin membranlardan transportunu da sağlar. Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (117).

II.16.6. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyonu sonucu lipid hidroperoksidlerine (LOOH) dönüşümüdür (51,79,158) (Şekil 6). İki ya da daha fazla doymamış karbon-karbon bağı içeren lipidler reaktif serbest radikallerin hedefidir. Serbest radikaller, özellikle reaktif oksijen radikalleri, membran lipidlerini oksitleyerek

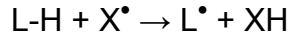
membran fonksiyonlarının bozulmasına, sonuç olarak hücre ölümü ve doku hasarına neden olurlar (116,167).

Birçok farklı kimyasallar (Örn: CCl_4 , etanol, demir), bazı ksenobiyotikler serbest radikallerin aracılık ettiği lipid peroksidasyonunu oluştururlar (78,167).

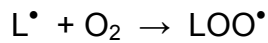


Şekil 7. Lipid peroksidasyonunun oluşumu (49).

Lipid peroksidasyonu hidroksil radikali, peroksi radikali gibi reaktif radikallerin (X^\bullet) hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırmasıyla başlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen uzaklaştırılması lipid radikalini (L^\bullet) oluşturur.

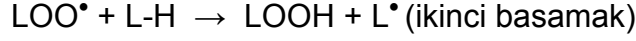
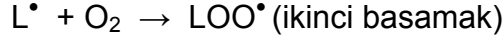
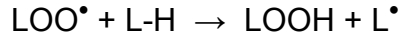


Oluşan bu radikal, aerobik ortamda moleküler oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur (LOO^\bullet) (51,78).



Lipid peroksil radikali, diğer bir çoklu doymamış yağ asidinden bir hidrojen atomu ayırarak lipid radikali (L^\bullet) ve lipid hidroperoksidi (LOOH) oluşumuna yol açar. Bu ikinci lipid radikali de, önce oksijen ile tepkimeye girerek peroksil radikali oluşturur, daha sonra bu peroksil radikali de yine diğer bir çoklu doymamış yağ asidinden bir hidrojen atomu ayırarak lipid

hidroperoksidlerinin oluştuğu aynı reaksiyonları devam ettirir. Bu olay lipid peroksidasyonun ilerlemesine neden olur (51,167).



Lipid peroksidasyonu çeşitli reaksiyonlar ile sonlandırılabilir. En önemlilerinden biri lipid peroksil radikali ya da lipid radikalinin vitamin C veya α -tokoferol gibi antioksidanlar ile reaksiyona girerek daha stabil tokoferol fenoksil radikali oluşumuna yol açmasıdır. Bu radikal, lipid peroksidasyonunun süregelen oluşum reaksiyonlarına katılmaz (51).

Hidroperoksidler, hidroksi yağ asitlerine indirgenebilir ya da siklik endoperoksidleri oluştururlar. Endoperoksidler, siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları aracılığıyla prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienlerin oluşumuna yol açan reaksiyonları başlatırlar. Non-enzimatik yollar malondialdehid de dahil olmak üzere alkanlar, aldehidler ve izoprostanlar gibi bileşiklerin oluşumunda rol oynarlar. Bu ürünlerin oluşumu lipid peroksidasyonunun sonlanma aşamasını oluşturur (50,51,116).

II.17. COX-2 İnhibitörleri ve Oksidatif Stres

Literatür taramalarında COX-2 inhibitörlerinin oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili oldukça az sayıda çalışma yapıldığı görölmektedir. Son zamanlarda oksidatif stres oluşturulmuş deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda ise COX-2 enzim inhibitörü ilaçların koruyucu etkilerinden söz edilmektedir. Nimesulid her iki COX enzimi üzerine de etkili olduğu bilinen bir ilaçtır. Yüksek konsantrasyonlarda bir antioksidan olarak sıçanlarda intestinal

polip ve kolon tümörlerinde baskılayıcı etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (176).

Diğer yandan, nimesulidin yapısında bulunan nitro-aromatik bileşiklerin in vitro olarak intrasellüler oksidatif strese neden olabildiğine dair kanıtlar da vardır (20,60,145). Nitro-aromatik bileşikler, nitroredüktazın katalizlediği bir veya iki elektron transfer yolağı tarafından enzimatik olarak indirgenerek intrasellüler oksidatif strese neden olmaktadır. Flavoproteinler gibi nitroredüktazlar endoplazmik retikulum ve sitozolde bulunmaktadır, bununla birlikte önemli oranda mitokondride de aktiftirler (106). Bir elektron transfer yolağı nitro radikalini oluşturur. Sonuçta süperoksit radikalleri oluşur. Bu ara ürünlerin üretimi ve aktiviteleri in vitro olarak çalışılmıştır (166). Ancak in vivo olarak olasılıkla hızlıca oluştukları bileşiklere geri otooksidasyona uğradıkları için çalışılamamıştır. Redoks siklusu teorik olarak 1 molekül nitro bileşiğı çok sayıda süperoksit radikali oluşturduğu için güçlü zararlı etkiye sahiptir. Eğer antioksidan savunma mekanizmaları yeterli olmazsa, süperoksit radikali üretimi mitokondrial değişikliklere hatta apoptozisin tetiklenmesine neden olabilir (23).

Selekoksinin çocuklar üzerindeki güvenilirlik ve etkinliğı ile ilgili veriler yetersizdir. Selekoksin ile ilgili çalışmalarda, oksidatif stres oluşturulmuş yeni doğmuş tavşanlarda ilacın oksidatif stres biyogöstergelerinde anlamlı azalmalara neden olduğu gösterilmiştir (126). Karaciğerde iskemi/reperfüzyona bağılı oksidatif stres oluşturulmuş sıçanlarda, selekoksin uygulamasının antioksidan enzim düzeylerinde artmaya neden olduğu, hepatoprotektif etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada COX-2

inhibitörlerinin hepatoprotektif etkisinin PG sentezinin baskılanması ve reaktif oksijen türlerinin azalmasına bağlı olabileceği savunulmuştur (127).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

III.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Nimesulid Hellsinn Chemicals SA (İsviçre) ve selekoksib Searle (Skokie, IL) tarafından sağlanmıştır. Kullanılan maddeler:

Sodyum karbonat (Na_2CO_3)	Merck
Sodyumbikarbonat (NaHCO_3)	Merck
Epinefrin	Sigma
CuZn SOD standardı	Sigma
Potasyumdihidrojenfosfat (KH_2PO_4)	Merck
Disodyumhidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Panreac
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Merck
Tris	Sigma
Na_2EDTA	Riedel
GSH (Redükte glutatyon)	Merck
NADPH	Sigma
Sodyum azid	Sigma
Glutatyon redüktaz	Fluka
Potasyum siyanür	Merck
Potasyum ferri siyanür	Sigma
% 0.9 NaCl	Eczacıbaşı
Sodyum pentobarbital	Sigma
Dietil eter	Merck
DTNB (5,5-Ditiyobis-2-nitro benzoik asit)	Sigma
Sülfirik asit	Riedel
Fosfotungstik asit	Riedel
Sodyum sülfat susuz	Riedel
Tiyobarbitürik asit	Sigma
1,1,3,3-tetraetoksipropan	Sigma
Karboksimetil selüloz	Sigma

III.2. Cihaz ve Malzemeler

Spektrofotometre	Shimadzu UV-1208
Su banyosu	Memmert WBU 45
Santrifüj	Sigma 3k30
Derin dondurucu (-86°C)	Nuaire Ultralow Freezer
Hassas terazi	Sartorius GP 2100
Vorteks	Electro-Mag, Nüve
Otomatik pipetler	Brand
Antikoagülanlı vacutainer tüpleri	Greiner

III.3. Deney Hayvanları ve Çalışma Protokolü

Çalışmamızda Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 4 haftalık dişi sıçanlar (Wistar Albino, 30-40 g) kullanılmıştır. Projemiz E.Ü. Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay almıştır.

Hayvanlar, çalışma ortamına uyum sağlamaları için deney başlangıcından bir hafta önce laboratuvara alınarak kafesleri düzenlenmiş ve 21-24 C^o de 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde barındırılmışlardır. Deney süresince içme suları ve besinleri serbest bırakılmıştır. Sıçanların genel görünüşleri, yiyecek ve içecek tüketimleri izlenerek vücut ağırlıkları her gün kaydedilmiştir.

İlaç etken maddeleri, deney hayvanlarına % 0.5'lik karboksimetil selüloz taşıyıcı süspansiyon içerisinde gavaj yoluyla 14 gün süre ile günde iki kez uygulanmıştır.

Çalışma grupları:

Kontrol grubu: Deney süresince gavaj yoluyla % 0.5'lik karboksimetil selüloz uygulanmıştır.

Nimesulid grubu: Deney süresince gavaj yoluyla süspansiyon içerisinde 2x2.5 mg/kg dozda etken madde uygulanmıştır.

Selekoksib grubu: Deney süresince gavaj yoluyla süspansiyon içerisinde 2x2.5 mg/kg dozda etken madde uygulanmıştır.

Deney süresi sonunda sodyum pentobarbital anestezisi altında (50 mg/kg), kan örnekleri alınmış, karaciğer ve böbrek dokuları çıkarılıp temizlenmiştir. Gerekli işlemlerden sonra örnekler deney gününe kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

Karaciğer ve böbrek hasarı değerlendirmesi için;

Organlar tartılmış, vücut ağırlıklarına göre oranlanarak ağırlık değişimi değerlendirilmiştir.

Serumda biyokimyasal parametrelerin tayini: Aminotransferazlar (ALT, AST), alkalen fosfataz, laktat dehidrojenaz aktiviteleri, üre, kreatinin, total kolesterol, trigliserit ve HDL-kolesterol (HDL), LDL-kolesterol (LDL) düzeyleri tayin edilmiştir.

Karaciğer ve böbrek dokularında glutatyon düzeyleri tayin edilmiştir.

Lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi amacıyla plazma malondialdehid düzeyleri tayin edilmiştir.

Histopatolojik inceleme: Organlar İzmir Behçet Uz Çocuk Hastanesinde Patoloji uzmanı Doç. Dr. Ragıp Ortaç tarafından incelenmiştir .

Antioksidan Aktivite Değerlendirmesi:

Eritrosit süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim aktiviteleri tayin edilmiştir. Antioksidan aktivite tayinleri eritrosit hemoglobin düzeyleri tayin edilerek hemoglobin üzerinden değerlendirilmiştir.

Serum total bilirubin ve ürik asit düzeyleri tayin edilmiştir.

Hematolojik Değerlendirme:

Tam kanda eritrosit, lökosit ve trombosit sayımı yapılmıştır.

III.4. Analiz Yöntemleri

III.4.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması

14 günlük deney süresi sonunda sıçanlardan venöz/intrakardiyak kan örnekleri serum eldesi için boş tüplere, plazma ve eritrosit lizatı eldesi için potasyum EDTA' lı tüplere alınmışlardır. Alınan kan örnekleri serum eldesi için 3000xg' de 10 dakika, eritrosit eldesi için ise +4 C⁰ de 3000xg' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Plazma kısmı ayrılarak lipid peroksidasyonu ölçümleri için saklanmış, kalan kısım 3 kez % 0.9 NaCl ile yıkanarak eritrosit lizatı elde edilmiştir. Daha sonra soğuk bidistile su ile 1/5 oranında dilüe edilmiştir. Lizatlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve hemoglobin tayinleri için -80 C⁰ de saklanmıştır. Ayrıca glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G-6-PDH) aktivitesi Randox kiti kullanılarak, taze kandan eritrosit lizatı benzer yöntemle hemen hazırlanarak aynı gün tayin edilmiştir.

Kan hücre sayımı kuyruktan alınan örneklerde hiç bekletilmeden mikroskop altında thoma lamı kullanılarak yapılmıştır.

Hayvanların karaciğer ve böbrek dokuları deney süresi sonunda çıkarılarak temizlenmiş ve tartıldıktan sonra, bir grup patolojik inceleme için % 10' luk formol içine alınmış, diğer bir grup ise glutatyon (GSH) tayini için aliminyum yapraklar içine alınarak deney gününe kadar -20 C⁰ de saklanmıştır.

III.4.2. Serum Analizleri

Serum örneklerinde aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP), laktat dehidrojenaz (LDH) aktiviteleri, üre, ürik asit, kreatinin, total bilirubin, kolesterol, trigliserit, HDL ve LDL düzeyleri Med-Tec diagnostik kitleri kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

III.4.3. Eritrositlerde Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivite Tayini

Eritrosit GPx aktivite tayini, Paglia ve Valentine ile Pleban ve arkadaşlarının yöntemleri temel alınarak uygulanmıştır (128,136). Yöntem, H₂O₂ varlığında GSH' un GPx tarafından GSSG' ye oksitlenmesi ve oksitlenen GSSG' nin glutasyon redüktaz enzimi ile tekrar GSH' a dönüştürülmesi esnasında ortamdaki NADPH' in kullanılması sonucu NADPH miktarındaki dolaylı olarak absorbanstaki azalmanın 340 nm' de spektrofotometrik olarak izlenmesi esasına dayanmaktadır.

Bir ünite GPx: 25 C^o de dakikada 1 nmol NADPH' in NADP⁺ ye oksidasyonu için gerekli enzim miktarıdır.

III.4.3.a. Kullanılan Çözeltiler

Reaksiyon ortamı; 50 mmol/L tris tamponu (pH=7.6) içerisinde, 1 mmol Na₂EDTA, 2 mmol redükte glutasyon, 0.2 mmol NADPH, 4 mmol sodyum azid ve 1000 U glutasyon redüktaz olarak hazırlanmıştır. Taze hazırlanmalıdır.

H₂O₂ çözeltisi; 8.8 mmol/L konsantrasyonda distile su ile hazırlanmıştır.

Drabkin çözeltisi; 1 g sodyum bikarbonat, 0.05 g potasyum siyanür, 0.2 g potasyum ferri siyanür distile deiyonize su ile 1 L' ye tamamlanmıştır.

III.4.3.b. Yöntem

Lizatlar drabkin çözeltisi ile 1/5 oranında dilüe edilmiştir. 980 µl reaksiyon ortamı üzerine 20 µl dilüe lizat eklenerek 37 C° de 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 10 µl H₂O₂ eklenerek reaksiyon başlatılır ve NADPH' in absorbansının azalması 340 nm' de 3.5 dakika boyunca takip edilir. Nonenzimatik reaksiyon için lizat yerine 20 µl distile deiyonize su konarak aynı yöntem uygulanmıştır. Yine NADPH absorbans azalması izlenerek herbir ölçümden çıkarılmıştır. Daha sonra dakikadaki absorbans farkı hesaplanarak aşağıdaki formüle göre enzim aktivitesi tayin edilmiştir.

$$U/gHb = \frac{\delta A/dak}{\epsilon x gHb} \times f$$

$\delta A/dak$: Dakikadaki absorbans farkı

ϵ : NADPH molar absorbtivitesi (6.22 µmol/L)

f: Dilüsyon faktörü

III.4.4. Eritrositlerde Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Eritrosit SOD aktivite tayini, Misra ve Fridovich' in yöntemleri temel alınarak uygulanmıştır (112). Yöntem, 480 nm dalga boyunda epinefrinin adrenokroma otooksidasyonuna dayalı kolorimetrik yöntemle SOD düzeylerinin tayini esasına dayanmaktadır.

Bir ünite SOD: pH=10.2' de epinefrinin adrenokroma oksidasyonunun % 50 inhibisyonu için gerekli enzim miktarıdır.

III.4.4.a. Kullanılan Çözelti, Tampon ve Standart

Karbonat tamponu: 50mM, pH= 10.2

Na₂CO₃ susuz: 5.3 g/L

NaHCO₃: 4.2 g/L

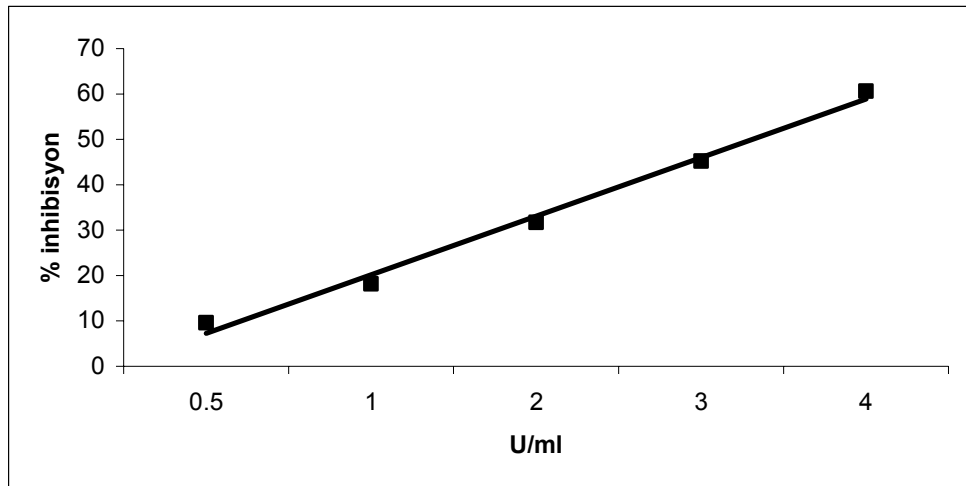
Hazırlanan Na₂CO₃ (64 ml) ve NaHCO₃ (26 ml) çözeltilerinden 50mM, pH=10.2 olacak şekilde karbonat tamponu hazırlanmıştır.

Epinefrin % 0.55: 55 mg epinefrin üzerine 0.05 ml HCl ilave edilir ve distile su ile 10 ml' ye tamamlanır.

SOD standartı: Bovin eritrosit CuZnSOD standartı kullanılmıştır.

III.4.4.b. SOD Kalibrasyon Eğrisi

3000 U SOD standartı 3 ml distile suda çözündürülür. Bu çözeltilerden karbonat tamponu ile dilüsyon yapılarak 0.5, 1, 2, 3, 4 U/ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Konsantrasyona karşı % inhibisyonların grafiğe geçirilmesiyle SOD kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir.



Şekil 8: SOD kalibrasyon eğrisi

III.4.4.c. Yöntem

Kör olarak 1 ml karbonat tamponu ve 0.025 ml epinefrin kullanılmıştır. Absorbans artışı 15 saniyelik periyotlarla 3 dakika boyunca 480 nm' de okunmuştur. Bu işlem her 10 örnekte bir kez tekrarlanmıştır. Lizatlar karbonat tamponu ile 1/100 oranında dilüe edilmiştir. 0.990 ml tampon üzerine 0.010 ml dilüe lizat örneği ve 0.025 ml epinefrinin % 0.55' lik çözeltisi eklenerek absorbans artışı 15 saniyelik periyotlarla 3 dakika boyunca 480 nm' de okunmuştur. Daha sonra SOD' un epinefrinin adrenokroma oksidasyonunu inhibe etme yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\Delta A \text{ standart ya da örnek} \times 100)}{\Delta A \text{ kör}}$$

Kalibrasyon eğrisinden elde edilen veriler U/g Hb olarak değerlendirilmiştir.

III.4.5. Eritrositlerde Katalaz (CAT) Enzim Aktivite Tayini

Eritrosit CAT aktivite tayini, Aebi'nin yöntemi temel alınarak uygulanmıştır (2). Yöntem, katalaz tarafından hidrojen peroksitein parçalanmasının spektrofotometrik olarak tayini esasına dayanmaktadır.

Bir ünite CAT: pH=7' de dakikada 1 µmol hidrojen peroksiti dekompoze eden enzim miktarıdır.

III.4.5.a. Kullanılan Çözelti ve Tampon

Fosfat tamponu: 50mM, pH= 7

KH₂PO₄: 6.81 g/L

Na₂HPO₄.2H₂O: 8.9 g/L

Hazırlanan KH₂PO₄ ve Na₂HPO₄.2H₂O çözeltilerinden (1:1.5) oranında karıştırılarak 50mM pH= 7 olacak şekilde fosfat tamponu hazırlanmıştır.

H₂O₂: % 30' luk stok H₂O₂' den 30 mM konsantrasyonda fosfat tamponu içerisine ilave edilerek hazırlanmıştır. Günlük olarak hazırlanmıştır.

III.4.5.b. Yöntem

Lizatlar fosfat tamponu ile 1/100 oranında dilüe edilmiştir. Taze hazırlanan 3 ml 30 mM H₂O₂ içeren fosfat tampon çözeltisinin (0.34 ml % 30' luk H₂O₂ + 99.66 ml fosfat tamponu) üzerine 0.1 ml örnek eklenerek 240 nm' de absorbansın azalması 15 saniyelik periyotlarla 3-4 dakika boyunca okunmuştur ve lineer regresyonlara göre her bir analiz için en uygun absorbanslar bulunarak, k değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Sonuçlar k/g Hb olarak değerlendirilmiştir.

$$k=(2.3/\Delta t). (a/b). (\log A1/A2)$$

a: Dilüsyon faktörü

b: Hemoglobin değeri

A1: Lineer regresyonlara göre t: 0 anındaki absorbans

A2: Lineer regresyonlara göre t:15 anındaki absorbans

III.4.6. Eritrositlerde Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz Enzim Aktivite Tayini

Eritrosit lizatlarında Randox diagnostik kitler kullanılarak yapılmıştır.

III.4.7. Glutasyon Tayin Yöntemi

Karaciğer ve böbrek dokularında GSH tayini De Ferreyra'nın yöntemi temel alınarak spektrofotometrik olarak yapılmıştır (48).

III.4.7.a. Kullanılan Çözeltiler

Doku homojenizasyonu için kullanılan çözeltiler:

0.1 M potasyum fosfat tamponu/0.15 M potasyum klorür çözeltisi (pH=7.4): 17.418 g K₂HPO₄ ve 13.609 g KH₂PO₄ tartılıp bir miktar 0.15 M potasyum klorür (11.475 g/L) çözeltisinde çözündürülmüştür. Çözeltinin pH'

sı N NaOH ile magnetik karıştırıcıda 7.4' e ayarlanmış ve 0.15 M KCL çözeltisi ile L' ye tamamlanmıştır.

GSH tayini için kullanılan çözeltiler:

0.1 M fosfat tamponu (pH=8): Doku homojenizasyonundaki gibi hazırlanmıştır. 5 mM Disodyum EDTA çözeltisi ilave edilerek pH' sı N NaOH ile 8' e ayarlanmıştır.

5 mM DTNB çözeltisi (5,5-Ditiyobis-2-nitro benzoik asit): 99 mg DTNB 500 ml distile su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

5 mM Disodyum EDTA çözeltisi: 1.861 g Disodyum EDTA.2H₂O 1000 ml distile su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

% 5' lik TCA (Trikloroasetik asit): 5 g TCA 100 ml distile su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

GSH standartı: Karaciğer ve böbrek dokularındaki glutatyon miktarları farklılık gösterdiği için her iki doku için ayrı standart eğri çizilmiştir. Böbrek dokusu için deney günü 0.0025, 0.0050, 0.0075 ve 0.0100 µmol/dl konsantrasyonlardaki standart seri distile su ile hazırlanmıştır. Karaciğer dokusu için deney günü 0.020, 0.030, 0.050 ve 0.075 µmol/dl konsantrasyonlardaki standart seri distile su ile hazırlanmıştır. Her bir konsantrasyon için 3 ölçüm yapılmıştır.

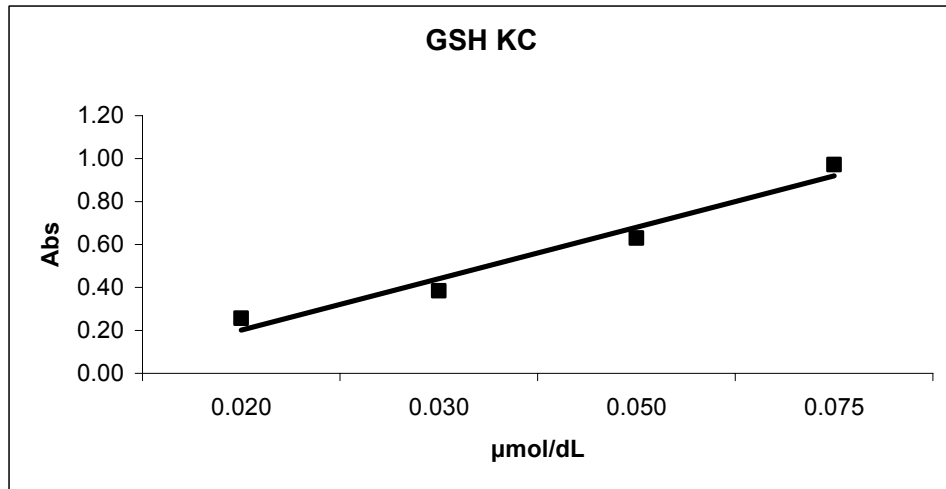
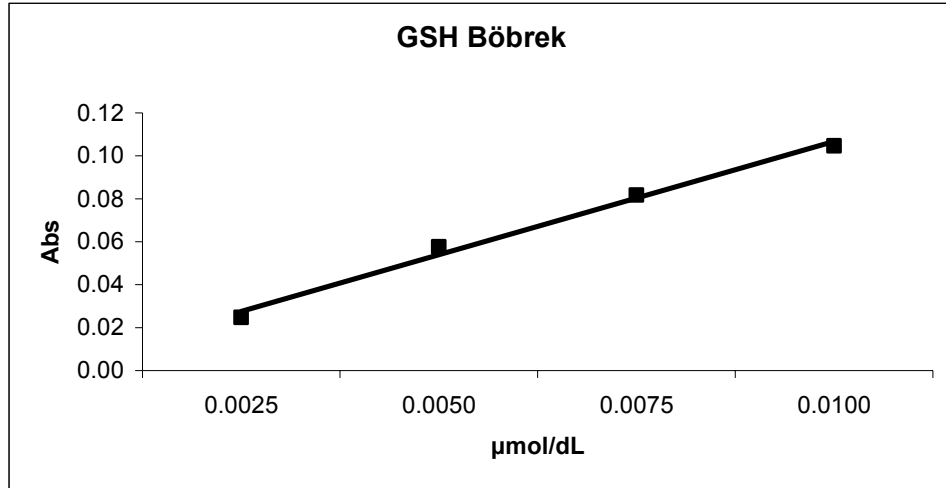
III.4.7.b. Yöntem

Karaciğer ve böbrek dokuları derin dondurucudan çıkarılarak bistüri yardımı ile parçalanabilecek kadar yumuşadıktan sonra küçük parçalara ayrılmış ve homojenizasyon tüplerine alınmıştır. Tüpte işgal ettikleri hacmin 4 katı 0.1 M fosfat tamponu ilave edilerek 10000 devirde 10 dk +4 C° de homojenize edilmiştir. Homojenatlar bekletilmeden 16500xg' de 30 dk

ultrasantrifüje tabi tutularak süpernatant ayrılıp glutatyon tayini hemen yapılmıştır.

Bunun için santrifüj tüplerine doku homojenat süpernatantından 1 ml alınarak üzerine 4 ml % 5' lik TCA ilave edilmiştir. 5 dk beketildikten sonra 1000xg' de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant eldesinden sonra aşağıda belirtilen prosedür uygulanmıştır:

	Kör Tüpü	Deney tüpü
Süpernatant	--	200 µl
Fosfat tamponu (pH:8)	2 ml	2 ml
DTNB çözeltisi	0.25 ml	0.25 ml
Distile su	200 µl	--



Şekil 9: Glutatyon kalibrasyon eğrileri

Hazırlanan kör ve örnek tüplerinde, spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda 3-4 dk içinde ölçüm yapılmıştır. Glutatyon standartlarıyla da aynı protokol izlenerek çalışılmış ve standart eğriler çizilerek, miktar tayini doku ağırlığı dikkate alınarak hesaplanmıştır.

III.4.8. Malondialdehid Tayin Yöntemi

Plazma malondialdehid tayini Satoh ile Yagi' nin yöntemleri modifiye edilerek uygulanmıştır (114,151,190).

III.4.8.a. Kullanılan Çözeltiler

Sülfirik asit (N/12): 2.26 ml % 98' lik sülfirik asit distile su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

Fosfotungstik asit (%10): 10 g fosfotungstik asit distile su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

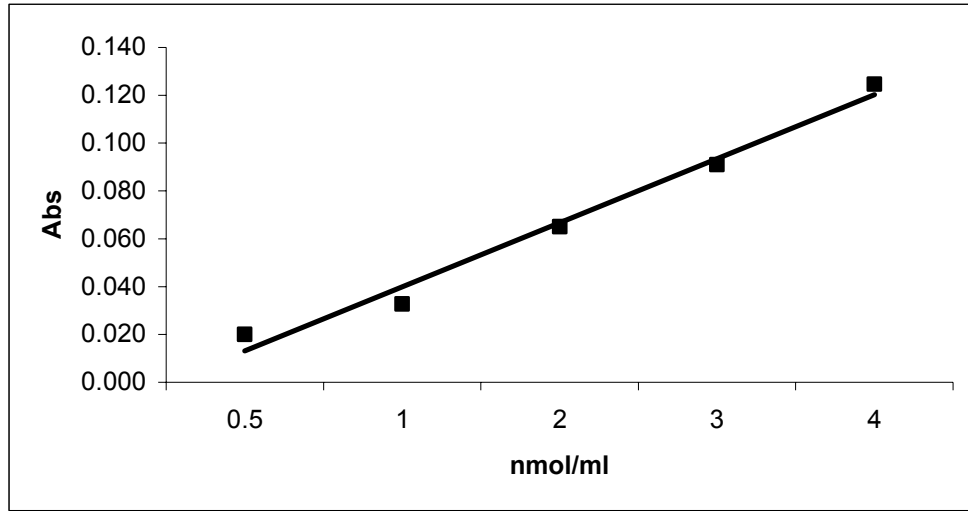
Sodyum sülfat (2 M): 28.4 g susuz sodyum sülfat yaklaşık 90 ml distile su içerisinde ısıtılarak ve karıştırılarak çözündürülmüş, soğutulduktan sonra distile su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

Tiyobarbitürik asit (=TBA; % 0.2): 0.2 g tiyobarbitürik asit tartılmış ve yaklaşık 90 ml 2M sodyum sülfat içerisinde çözündürülmüştür. Soğutulduktan sonra 2M sodyum sülfat ile 100 ml' ye tamamlanmıştır.

Malondialdehid kalibrasyon eğrisi için standart çözeltiler; malondialdehid stabil bir molekül olmadığı için standart olarak deney sırasında malondialdehide dönüşen 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanılmıştır. Önce 1,1,3,3-tetraetoksipropan çözeltilerinden distile su ile "stok standart çözeltisi" (400 nmol/ml) hazırlanmış, bu çözeltilerden N/12 sülfirik asit ile dilüsyon yapılarak 0.5, 1, 2, 3, 4 nmol/ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmıştır.

III.4.8.b. Malondialdehid Kalibrasyon Eğrisi

Standart çözeltilerin her birinden 0.5 ml alınarak üzerine 2 ml N/12 sülfirik asit ve 3 ml % 0.2 tiyobarbitürik asit ilave edilmiş ve tüpler kaynar su banyosunda 60 dakika tutulmuştur. Alüminyum folyo ile kaplanan tüpler 10 dakika buz banyosunda bekletilerek soğutulmuştur. Oluşan renkli kompleks, 3 ml n-butanol ilave edilerek butanol fazına geçirilmiş, santrifüj ile ayırma işleminin ardından butanollü fazın absorbansı 533 nm' de köre karşı okunmuştur. Kör, 2.5 ml N/12 sülfirik asit üzerine 3 ml % 0.2 tiyobarbitürik asit ilave edilerek hazırlanmış ve standart çözeltiler ile aynı muameleye tabi tutulmuştur. Her konsantrasyon için 3 ölçüm yapılmıştır.



Şekil 10: MDA kalibrasyon eğrisi

III.4.8.c. Örneklerin Hazırlanışı

Plazma örneklerinden 0.5 ml alınmış, 4 ml N/12 sülfirik asit ilave edilerek vortekslenmiştir; 0.5 ml fosfotungstik asit eklenerek tekrar vortekslenildikten sonra tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 3000 devir/dk' da 10 dakika santrifüj edilerek ayrılan süpernatant

atılmış, çökelti üzerine 2.5 ml N/12 sülfirik asit ve 3 ml % 0.2 tiyobarbitürik asit konup vortekslenmesinin ardından tüpler 60 dakika kaynar su banyosunda bekletilmişlerdir. Kaynama süresi sonunda deney tüpleri buz banyosuna konularak reaksiyon sonlandırılmıştır. Oluşan pembe renkli kompleks tüplere 3 ml n-butanol ilave edilerek butanollü faza geçirilmiş, santrifüj ile ayırma işleminden sonra butanollü fazın absorbanansı 533 nm' de köre karşı okunmuştur.

III.4.9. Kan Hücre Sayımı

Hücre sayımı için deney sonunda kuyruk veninden alınan kanlarda eritrosit, lökosit ve trombositler manuel yöntemle thoma lamında sayılarak ölçülmüşlerdir. Bunun için eritrosit ve lökosit pipetleri kullanılmıştır.

III.4.10. Histopatolojik Çalışmalar

Her grup sıçandan alınan karaciğer ve böbrek doku örnekleri % 10' luk formol çözeltisi içerisinde saklanmıştır. Işık mikroskopunda inceleme için etanol, ksilol ve parafinle işleme tabi tutulduktan sonra dokulardan 5 µm' lik kesitler alınmıştır. Hemotoksilin-eozin ve periyodik asit-Schiff bazı ile boyanarak incelenmiştir.

III.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi, Macintosh için hazırlanmış Statview-II istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farklılığın analizi student t-testi kullanılarak yapılmıştır. Anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

IV. BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan deney hayvanlarının dış görünüşleri ve vücut ağırlıkları çalışma süresince izlenmiştir. Kontrol grubu ve NSAİ ilaç uygulaması yapılan gruplar için elde edilen analiz sonuçları Tablo 1-16' da görülmektedir. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları, deney sonunda saptanan artış yüzdeleri ile karaciğer ve böbrek ağırlıkları tablo 13' de gösterilmiştir.

Nimesulid ve selekoksib grubunda serum aminotransferazlarda AST aktiviteleri anlamlı derecede yükselmiş (sırasıyla $p<0,0005$; $p<0,01$), ALT aktivitesinde her iki grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değişiklik saptanmamıştır. LDH düzeylerinde nimesulid grubunda artış saptanmış ($p<0,005$), ancak ALP düzeylerinin değişmediği gözlenmiştir.

Trigliserit düzeyleri her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı derecede artarken (nimesulid için $p<0,01$; selekoksib için $p<0,05$), Total kolesterol ve LDL düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. HDL düzeyleri yalnızca nimesulid grubunda anlamlı derecede azalmıştır ($p<0,005$). Üre düzeyleri her iki ilaç grubunda artarken (nimesulid ($p<0,05$), selekoksib ($p=0,0001$)), ürik asit, total bilirubin ve kreatinin düzeyleri yalnızca nimesulid grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır (sırasıyla $p=0,0001$; $p<0,01$; $p<0,001$).

Lipid peroksidasyon düzeylerinde de her iki ilaç grubunda anlamlı derecede artışlar gözlenmiştir (nimesulid için $p<0,0005$; selekoksib için $p=0,05$).

G-6-PDH ve SOD aktivitesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ilaç uygulanan gruplarda anlamlı değişiklikler göstermemiştir. Ancak GPx aktivitelerinde azalma gözlenmiştir (nimesulid için $p<0,05$, selekoksib için $p=0,01$). CAT aktivitesi nimesulid grubunda azalmış ($p<0,005$), selekoksib grubunda ise artmıştır ($p<0,05$). Total glutasyon düzeyleri için, her iki ilaç grubunda karaciğer dokusunda anlamlı değişiklikler saptanmazken, böbrek dokusunda selekoksib grubunda artış görülmüştür ($p<0,01$).

Sıçanların kuyruk veninden alınan tam kan örneklerinde yapılan hücre sayımlarında selekoksib grubunda eritrosit ve lökosit sayılarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışlar saptanmış (eritrositler için $p<0,005$, lökositler için $p<0,05$), trombosit sayılarında ise anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır.

Histopatolojik incelemelerde 7 kontrol, 5 nimesulid ve 7 selekoksib hayvanı incelenmiştir. İlaç uygulanan gruplarda hepatik ve renal hasarlar izlenmiştir.

Karaciğer dokuları incelendiğinde;

Nimesulid grubunda; 2 hayvanın karaciğerinde hidropik dejenerans, 2 hayvanda Kupffer hücre proliferasyonu ve 1 hayvanda konjesyon görülmüştür. Selekoksib uygulanan ilaç grubunda ise, 2 hayvanın karaciğerinde granülomatoz inflamasyon, 2' sinde fokal nekroz odakları, 1' inde Kupffer hücre proliferasyonu, 1 hayvanda da portal inflamasyon görülmüştür.

Böbrek dokuları incelendiğinde;

Nimesulid grubu için 2 hayvanda konjesyon görülmüştür. Selekoksib grubu için 3 hayvanda glomerüllerde ve 3 hayvanda medullada daha yoğun

olmak üzere 6 hayvanda konjesyon, 4 hayvanın sol böbreklerinde medullada yoğun tübüler hyalen kast oluşumu izlenmiştir.

ÖRNEK NO	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	LDH(U/L)	HDL-KOL (mg/dl)	LDL-KOL (mg/dl)	TG (mg/dl)	T.Kolesterol (mg/dl)	ÜRE (mg/dl)	Ürik A. (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)
K1	77.0	20.5	106.0	240.0	48.30	36.70	67.2	66.6	34.6	1.58	0.76	0.76
K2	76.5	18.0	150.0	288.0	50.00	44.85	45.2	83.6	35.5	2.14	1.00	0.91
K3	76.5	28.2	159.0	264.0	56.00	29.54	47.4	96.4	34.5	0.80	1.00	0.98
K4	32.7	34.0	178.0	264.0	60.00	39.74	28.8	94.0	37.0	0.60	1.10	0.55
K5	79.0	24.0	164.0	194.0	76.00	11.74	33.3	103.6	25.5	0.50	0.70	0.79
K6	47.4	32.5	359.7	359.0	63.30	55.32	31.8	64.7	30.6	1.00	0.80	0.89
K7	99.9	23.9	437.9	194.3	74.70	47.26	62.4	81.4	33.4	1.50	1.00	0.68
K8	12.2	28.7	413.1	234.8	53.00	33.92	60.7	142.5	32.8	2.00	0.90	0.85
K9	36.8	24.9	277.5	329.2	59.70	78.26	51.9	112.4	30.9	1.30	0.90	0.81
K10	31.7	25.7	275.6	221.3	90.70	22.35	47.2	104.0	34.2	1.45	0.94	1.06
K11	28.2	24.8	106.3	188.9	28.94	31.36	54.9	178.4	45.6	1.13	1.21	1.03
K12	26.7	25.7	325.7	191.9	27.19	30.93	29.6	62.3	54.5	1.49	0.87	0.88
K13	19.0	22.2	280.5	102.5	39.91	44.70	45.1	64.5	45.5	1.66	1.03	0.88
K14	67.0	21.9	204.6	188.9	52.63	52.11	40.8	79.9	54.2	1.10	0.94	0.88
K15	59.4	25.4	292.6	126.8	27.63	58.78	59.2	105.5	40.1	1.27	0.98	0.88
K16		24.1	202.4	105.2	31.14		45.1	91.6	50.0	1.02		1.00
K17			276.1	170.0				98.9	45.8	1.18		1.00
K18			308.0							0.70		
K19										0.63		
K20										0.37		
K21										0.58		
K22										0.42		

Tablo 1: Kontrol grubuna ait biyokimyasal değerler

ÖRNEK NO	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	LDH(U/L)	HDL-KOL (mg/dl)	LDL-KOL (mg/dl)	TG (mg/dl)	T.Kolesterol (mg/dl)	ÜRE (mg/dl)	Ürik A. (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)
N1	99.50	26.0	110.0	331.0	21.00	59.62	62.4	93.10	36.9	2.60	1.24	1.00
N2	52.00	25.2	170.0	364.0	28.30	49.16	67.2	90.90	40.5	1.90	1.50	1.00
N3	104.00	24.0	162.0	345.0	26.60	57.28	80.6	94.00	47.0	2.34	1.62	2.00
N4	60.70	20.5	264.0	307.0	26.60	52.58	52.1	83.60	45.0	1.58	1.24	1.00
N5	98.00	23.0	182.0	299.0	19.60	42.20	67.0	75.20	31.8	1.70	0.86	2.00
N6	77.40	23.3	235.0	358.0	56.80	22.80	88.4	96.90	52.3	2.39	1.00	1.00
N7	108.90	34.5	269.0	334.0	21.00	52.32	69.9	87.30	51.3	2.60	1.90	2.00
N8	55.90	42.0	211.3	342.4	42.00	40.48	48.1	92.10	38.4	2.29	1.40	1.00
N9	66.40	31.4	224.8	349.9	35.30	60.40	50.0	105.70	40.3	3.80	0.90	1.08
N10	71.10	34.2	269.0	361.2	10.30	45.22	98.4	75.20	49.7	4.30	0.80	0.79
N11	84.20	30.6	431.5	334.3	6.30	45.78	37.1	59.50	45.2	1.70	1.10	0.97
N12	109.40	35.5	230.9	316.4	9.30	62.74	32.3	78.50	48.7	1.90	1.10	0.95
N13	99.50	31.7	181.7	330.7	49.60	33.86	67.2	96.90	51.7	4.20	1.10	1.17
N14	96.90	30.8	198.6	354.2	69.70	15.82	59.9	97.50	46.6	4.20	1.10	1.14
N15	69.80	24.3	200.9	421.4	58.00	12.14	62.3	82.60	51.3	3.80	0.90	1.32
N16	82.10	31.9	211.3	403.8				107.00	42.0	4.90		1.39
N17	77.40	21.8							44.7			1.18
N18	79.30	23.7										

Tablo 2: Nimesulid grubuna ait biyokimyasal değerler

ÖRNEK NO	AST(U/L)	ALT(U/L)	ALP(U/L)	LDH(U/L)	HDL-KOL (mg/dl)	LDL-KOL (mg/dl)	TG (mg/dl)	T.Kolesterol (mg/dl)	ÜRE (mg/dl)	Ürik A. (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)
S1	79.32	20.6	235.4	183.5	49.12	27.84	98.6	96.70	45.5	1.05	0.85	0.86
S2	84.08	51.4	224.4	178.1	65.78	46.99	66.2	126.00	131.8	1.12	1.08	0.63
S3	65.05	30.8	207.9	137.6	44.29	33.26	40.8	85.71	54.5	1.98	0.96	0.75
S4	88.05	31.1	210.1	334.6	54.38	31.28	43.7	94.50	59.1	1.36	0.78	0.75
S5	57.90	28.2	242.0	191.6	58.77	26.44	64.8	98.16	63.6	0.93	1.42	0.75
S6	57.90	24.4	270.6	245.5	39.22	35.84	42.2	83.51	95.4	1.20	1.10	0.86
S7	78.53	24.4	232.1	245.5	28.07	62.15	50.7	100.36	63.6	0.96	1.03	0.86
S8	79.32	24.8	280.5	180.8	61.84	42.02	33.8	110.62	118.2	0.85	1.28	0.75
S9	67.42	33.3	310.2	105.2	59.64	37.23	76.1	112.08	63.6	1.97	1.98	1.13
S10	92.03	29.8	293.7	129.5	40.78	28.32	64.8	82.05	63.6	1.22	0.92	1.13
S11	64.25	31.1	281.6	151.1	30.70	36.30	42.2	75.45	100.0	0.97	1.03	0.88
S12	62.65	20.6	217.8	213.2	66.22	34.21	62.0	112.82	58.3	0.97	0.66	1.25
S13	60.28	20.9	376.2	186.2	43.85	67.28	45.1	120.14	91.7	0.63	0.89	1.25
S14	55.52	11.1	181.5	178.1	44.73	50.06	53.5	105.49	66.7	1.08	1.03	0.75
S15	63.45	17.8	264.0	102.5	45.17	27.68	59.2	84.24	58.3	0.75	1.21	0.75
S16	48.38	24.8	298.1	105.2	55.26	29.39	31.0	90.84	70.8	0.74	0.89	0.88
S17	61.88	20.3	198.0	226.7	29.82	49.14	70.4	93.04	62.5	0.70	1.05	1.50
S18	75.35	23.5	244.2	224.1	26.75	39.87	66.2	79.85	50.0	1.01	0.71	1.38
S19	63.45	27.6	361.9	110.6	34.21	38.12	60.6	86.44	45.8	1.40	0.56	1.00
S20	83.30	17.8	309.1	202.4	59.64	45.30	57.7	116.48	62.5	0.74	0.92	0.88
S21	84.88	27.6	259.6	164.6	35.08	35.71	56.3	82.05	66.7	2.06	1.26	0.88
S22	65.82	23.2	303.6		37.71	51.90	83.1	106.22	70.8		0.98	1.63
S23	69.00	24.4	189.2		33.33	56.56	45.1	98.90	75.0		0.82	1.75
S24		22.2	222.2		39.47	31.82	64.8	84.24	91.7		0.85	1.38

Tablo 3: Selekoksisib grubuna ait biyokimyasal değerler

ÖRNEK NO	GPx (U/gHb)	CAT (k/gHb)	SOD (U/gHb)	G-6-PDH (mU/gHb)
K1	66.00	24.14	2483.15	12268.68
K2	114.31	58.27	1948.46	12988.40
K3	47.37	46.79	3816.57	9752.89
K4	140.55	61.25	4286.92	9738.88
K5	83.39	50.42	1810.29	14450.94
K6	192.35	34.81	2859.16	10922.34
K7	110.92	51.74	3969.85	10698.41
K8	39.05	18.11	1684.44	14055.30
K9	80.94	18.26	2323.60	12279.71
K10	84.95	74.08	2395.57	5643.70
K11	53.45	34.90	2216.31	8396.22
K12	123.10	44.59	4449.58	5616.17
K13	180.47	72.36	4925.17	8821.45
K14	96.14	40.97	2426.85	9201.15
K15	70.37	55.25	2787.56	14468.40
K16	95.50	67.81	3353.14	
K17	91.46	68.99	3188.34	
K18	60.73	63.12	3371.90	
K19	81.71	69.56	2858.17	
K20	82.52	49.66	2588.71	

Tablo 4: Kontrol grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri

ÖRNEK NO	GPx (U/gHb)	CAT (k/gHb)	SOD (U/gHb)	G-6-PDH (mU/gHb)
N1	13.88	32.85	4285.25	13181.56
N2	56.03	42.98	4899.95	12913.56
N3	29.98	32.10	2490.68	13644.12
N4	60.75	18.11	3286.02	9626.47
N5	82.82	54.10	3502.75	14390.56
N6	54.15	35.52	2465.70	13496.90
N7	46.79	20.33	2363.88	11199.16
N8	86.24	33.49	2879.73	13794.67
N9	67.69	52.87	2140.52	11640.95
N10	64.17	43.53	2601.36	11712.15
N11	100.44	38.90	2259.48	10960.67
N12	101.09	17.91	3357.46	10814.96
N13	83.04	29.49	2997.98	8542.52
N14	72.37	27.33	2626.69	14402.65
N15	53.17	39.11	2279.20	6425.66
N16		26.53		

Tablo 5: Nimesulid grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri

ÖRNEK NO	GPx (U/gHb)	CAT (k/gHb)	SOD (U/gHb)	G-6-PDH (mU/gHb)
S1	42.03	90.18	2021.79	12487.98
S2	70.18	97.89	2123.89	12226.35
S3	71.45	70.49	3620.92	15207.58
S4	75.78	60.84	2922.56	13222.39
S5	69.38	57.11	2810.67	15615.97
S6	63.35	66.49	2602.64	9612.96
S7	43.37	52.98	1869.09	12304.37
S8	54.15	43.05	1782.46	12407.53
S9	93.15	80.49	4063.11	13544.88
S10	67.92	48.30	2952.15	13189.61
S11	82.82	44.22	3442.42	10117.07
S12	68.44	37.39	3288.31	10054.39
S13	59.25	41.37	2265.58	7626.74
S14	71.45	66.22	2140.04	10693.33
S15	62.67	89.75	2870.06	8510.47
S16	69.35	69.11	3518.21	12709.48
S17	54.59	66.96	2536.96	
S18	65.63	38.45	2470.28	

Tablo 6: Selekoksib grubuna ait antioksidan enzim aktiviteleri

ÖRNEK NO	MDA (nmol/ml)	GSH ($\mu\text{mol/gKC}$)	GSH ($\mu\text{mol/gBöb}$)	Hb (g/dl)
K1	1.46	4.32	1.89	9.94
K2	1.62	5.62	1.21	7.57
K3	1.16	5.28	1.69	8.44
K4	1.26	3.48	2.12	9.07
K5	1.29	3.93	0.78	8.36
K6	1.45	3.70	0.75	8.96
K7	1.70	3.73	0.84	11.81
K8	1.70	1.68	0.75	11.44
K9	1.77	3.71	0.66	10.54
K10	1.60	2.67	0.36	8.89
K11	1.53	3.41	1.46	13.65
K12	0.99	3.67	0.89	13.43
K13	1.15	2.34	0.83	14.51
K14	1.59	4.21	0.44	13.58
K15	1.99	4.55	1.08	9.90
K16	0.86	5.86	0.28	
K17	1.49			

Tablo 7: Kontrol grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri

ÖRNEK NO	MDA (nmol/ml)	GSH ($\mu\text{mol/gKC}$)	GSH ($\mu\text{mol/gBöb}$)	Hb (g/dl)
N1	1.92	2.89	1.02	10.77
N2	1.49	2.02	1.19	11.09
N3	2.18	3.69	0.95	9.83
N4	1.59	3.35	0.92	12.98
N5	1.87	2.45	0.54	9.53
N6	1.80	3.51	0.54	11.29
N7	3.46	2.90	1.36	12.79
N8	3.16	2.15	0.51	11.93
N9	2.78	4.05	1.05	13.09
N10	1.60	4.88	1.15	12.49
N11	1.66	3.34	1.55	11.40
N12	1.47	4.97	0.92	10.99
N13	1.89	2.69	2.01	13.20
N14	2.35	3.01	0.57	10.58
N15	2.32	3.52	0.86	13.28
N16	1.80			
N17	1.92			
N18	2.78			

Tablo 8: Nimesulid grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri

ÖRNEK NO	MDA (nmol/ml)	GSH ($\mu\text{mol/gKC}$)	GSH ($\mu\text{mol/gBöb}$)	Hb (g/dl)
S1	1.79	3.15	1.84	11.48
S2	1.05	2.88	1.36	8.48
S3	2.05	3.17	2.19	9.02
S4	1.19	3.83	0.78	9.45
S5	1.89	3.54	0.72	8.59
S6	1.05	3.86	1.13	10.46
S7	2.22	2.71	1.23	9.41
S8	2.65	3.15	1.17	9.82
S9	1.49	3.95	1.13	7.65
S10	2.35	4.05	1.62	7.43
S11	1.39	4.11	1.88	9.04
S12	1.75	4.29	1.47	10.91
S13	1.82	4.00	1.90	12.79
S14	1.95	2.19	2.26	14.25
S15	2.32	5.26	1.16	7.16
S16	2.82	4.15	2.17	9.11
S17	0.96			8.25
S18				10.22
S19				9.23
S20				9.11
S21				8.85
S22				8.93
S23				10.01
S24				9.68

Tablo 9: Selekoksib grubuna ait lipid peroksidasyonu ve glutatyon değerleri

ÖRNEK NO	ERİTROSİT (x10⁶mm⁻³)	LÖKOSİT (x10³mm⁻³)	TROMBOSİT (x10⁶mm⁻³)
K1	5.56	10.4	4.23
K2	7.03	5.8	3.63
K3	7.78	13.8	4.85
K4	7.39	8.4	4.46
K5	7.98	3.0	7.71
K6	4.91	6.2	6.13
K7	8.32	14.8	3.30
K8	7.02	3.8	3.80
K9	5.07	5.8	4.17
K10	6.40	12.8	3.11
K11	6.07	11.4	3.13
K12	5.60	8.4	2.10
K13	3.78	3.2	2.48
K14	7.92	8.8	4.27
K15	6.55	10.6	3.77

Tablo 10: Kontrol grubuna ait hematolojik değerler

ÖRNEK NO	ERİTROSİT (x10⁶mm⁻³)	LÖKOSİT (x10³mm⁻³)	TROMBOSİT (x10⁶mm⁻³)
N1	5.93	7.6	3.99
N2	6.53	8.4	4.06
N3	5.06	8.0	4.39
N4	10.17	6.6	2.89
N5	4.21	7.6	3.11
N6	4.12	4.0	2.77
N7	4.31	9.8	3.68
N8	5.22	10.2	4.98
N9	8.01	8.4	4.28
N10	7.81	11.4	5.12
N11	6.04	7.2	3.00
N12	7.43	4.8	5.01
N13	6.96	16.8	3.78
N14	5.51	3.0	2.13
N15	8.98	14.4	1.54

Tablo 11: Nimesulid grubuna ait hematolojik değerler

ÖRNEK NO	ERİTROSİT (x10⁶mm⁻³)	LÖKOSİT (x10³mm⁻³)	TROMBOSİT (x10⁶mm⁻³)
S1	7.43	6.8	4.25
S2	9.74	8.0	3.33
S3	7.75	10.8	3.83
S4	7.31	8.8	3.81
S5	9.98	11.2	4.70
S6	6.91	12.2	4.36
S7	8.98	14.6	3.70
S8	8.68	7.4	3.77
S9	7.84	14.8	3.51
S10	8.19	11.2	5.01
S11	8.31	12.8	5.22
S12	6.63	13.0	2.82
S13	8.99	13.4	2.63
S14	5.18	10.4	3.48
S15	6.18	13.0	4.81
S16		11.6	4.73

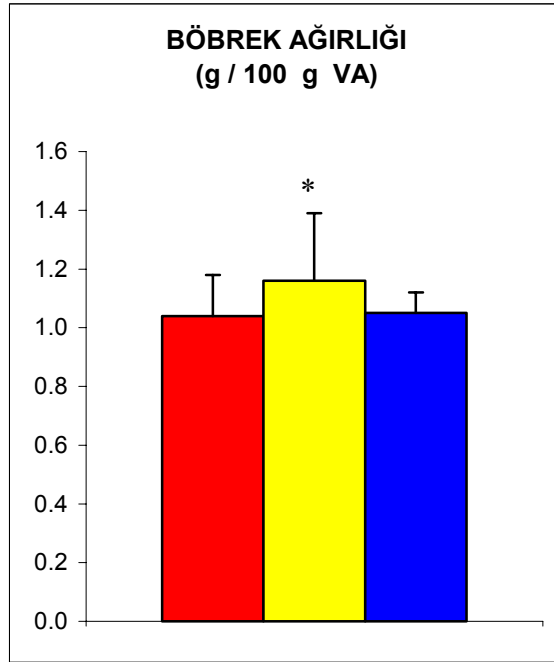
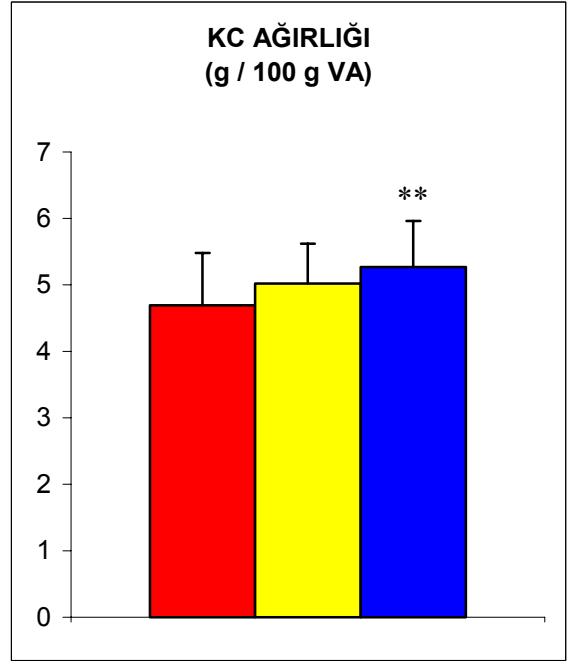
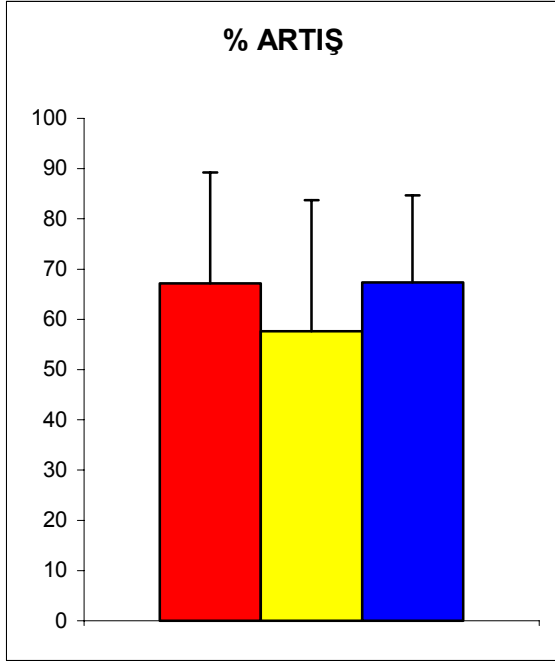
Tablo 12: Seleksib grubuna ait hematolojik değerler

	VÜCUT AĞIRLIKLARI (VA, gram)				KC AĞIRLIĞI (g / 100 g VA)	BÖBREK AĞIRLIĞI (g / 100 g VA)
	VA (İLK GÜN)	VA (7. GÜN)	VA (15. GÜN)	% ARTIŞ		
KONTROL GRUBU	41.77 ± 8.4 (30.0 – 56.1)	49.65 ± 10.1 (35.7 – 71.1)	63.41 ± 12.3 (40.4 – 92.9)	67.16 ± 22.1	4.69 ± 0.79 (3.33 – 6.60)	1.04 ± 0.14 (0.82 – 1.37)
NİMESULİD GRUBU	38.86 ± 5.4 (31.2 – 48.7)	48.39 ± 6.9 (38.8 – 60.5)	59.22 ± 10.8 (34.4 – 77.0)	57.64 ± 26.1	5.02 ± 0.60 (4.02 – 6.32)	1.16 ± 0.23* (0.84 – 1.94)
SELEKOKSİB GRUBU	44.88 ± 4.4 (34.5 – 50.2)	59.45 ± 7.2 (44.8 – 71.3)	74.85 ± 8.5 (57.5 – 88.9)	67.39 ± 17.3	5.27 ± 0.69** (4.22 – 6.67)	1.05 ± 0.07 (0.93 – 1.24)

Değerler ortalama ± standart sapma (sınır değerler) olarak ifade edilmiştir (n=20-32).

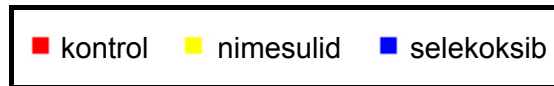
* p<0.05, ** p<0.01 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

Tablo 13: Kontrol ve ilaç gruplarında ortalama vücut ve organ ağırlıkları



* p<0.05, ** p<0.01 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

Şekil 11: Vücut ağırlıklarındaki değişim ve organ ağırlıkları



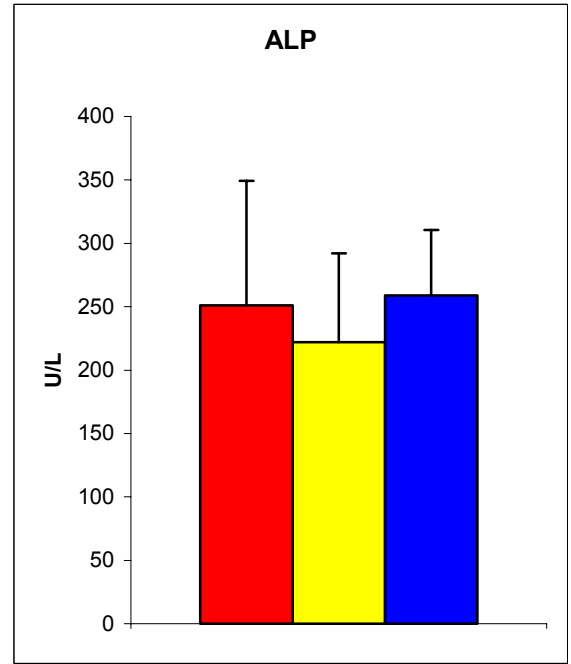
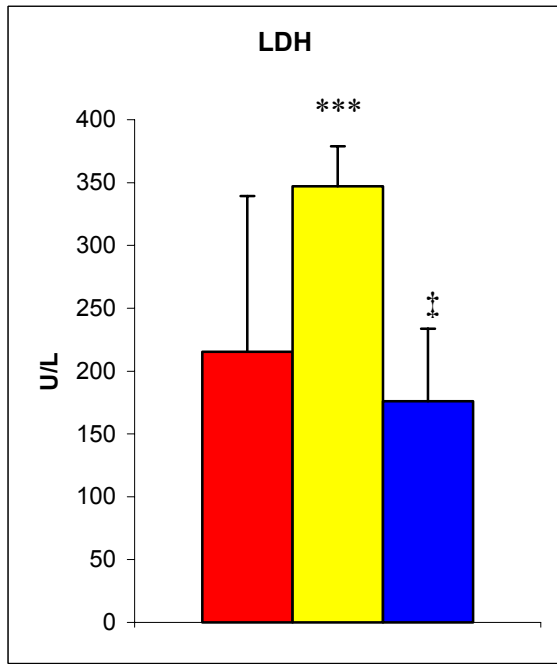
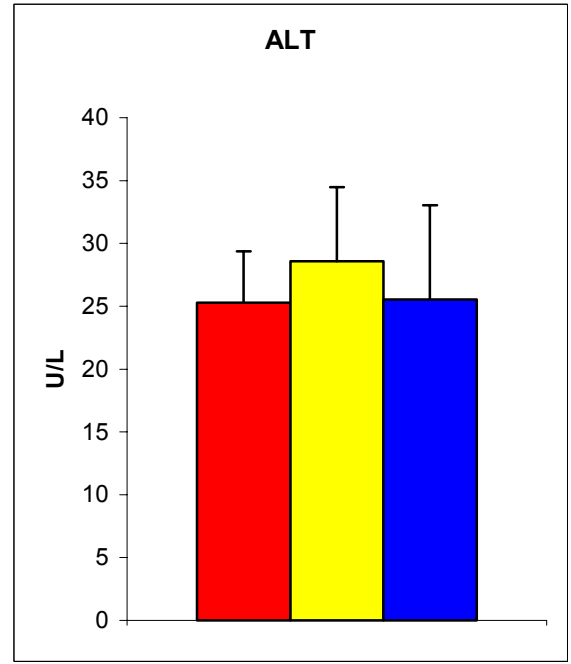
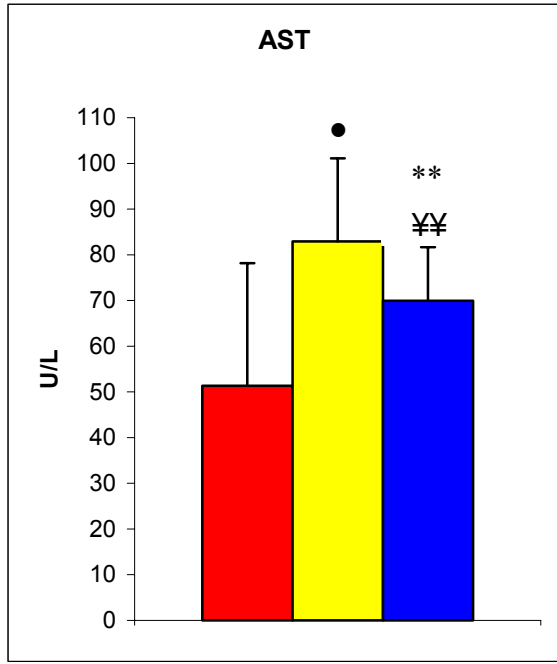
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER	KONTROL GRUBU	NİMESULİD GRUBU	SELEKOKSİB GRUBU
AST (U/L)	51.35 ± 26.8 (12.4 – 99.9) (n=15)	82.92 ± 18.2 ● (50.2 – 109.4) (n=18)	69.91 ± 11.8**¥¥ (48.4 – 92.0) (n=23)
ALT (U/L)	25.28 ± 4.1 (18.0 – 34.0) (n=16)	28.58 ± 5.9 (20.5 – 42.0) (n=18)	25.53 ± 7.5 (11.1 – 51.4) (n=24)
LDH (U/L)	215.44 ± 123.7 (102.5 – 359.0) (n=17)	347.02 ± 31.8*** (299.0 – 421.4) (n=16)	176.03 ± 57.7‡ (102.5 – 339.6) (n=21)
ALP (U/L)	250.94 ± 98.4 (106.0 – 437.9) (n=18)	222.00 ± 70.1 (110.0 – 431.5) (n=16)	258.90 ± 51.5 (181.5 – 376.2) (n=24)
TG (mg/dl)	46.91 ± 12.0 (28.8 – 67.2) (n=16)	62.86 ± 17.8** (32.3 – 98.4) (n=15)	57.45 ± 15.8* (31.0 – 98.6) (n=24)
T. Kolesterol (mg/dl)	95.89 ± 29.7 (62.3 – 178.4) (n=17)	88.50 ± 12.3 (59.5 – 107.0) (n=16)	96.91 ± 14.2 (75.5 – 126.0) (n=24)
HDL (mg/dl)	52.45 ± 18.6 (27.2 – 90.7) (n=16)	31.23 ± 19.7*** (6.3 – 69.7) (n=15)	45.16 ± 12.4¥¥ (26.8 – 66.2) (n=24)
LDL (mg/dl)	41.17 ± 16.3 (11.7 – 78.3) (n=15)	43.49 ± 16.0 (12.1 – 62.7) (n=15)	40.20 ± 11.3 (26.4 – 67.3) (n=24)
Üre (mg/dl)	39.07 ± 8.6 (25.0 – 54.5) (n=17)	44.91 ± 5.9* (31.8 – 52.3) (n=17)	72.08 ± 21.9 ●●‡ (45.4 – 131.81) (n=24)
Ürik Asit (mg/dl)	1.11 ± 0.5 (0.37 – 2.14) (n=22)	2.89 ± 1.1 ●● (1.58 – 4.90) (n=16)	1.13 ± 0.4‡ (0.63 – 2.06) (n=21)
T. Bilirubin (mg/dl)	0.94 ± 0.1 (0.70 – 1.21) (n=15)	1.18 ± 0.3** (0.8 – 1.9) (n=15)	0.97 ± 0.2¥ (0.60 – 1.42) (n=24)
Kreatinin (mg/dl)	0.87 ± 0.1 (0.55 – 1.06) (n=17)	1.23 ± 0.4**** (0.79 – 2.0) (n=17)	1.03 ± 0.3 (0.63 – 1.75) (n=24)

Değerler ortalama ± standart sapma (sınır değerler) olarak ifade edilmiştir.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005, **** p<0.001; ● p<0.0005, ●● p<0.0001 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

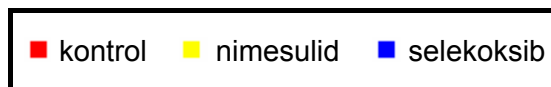
¥ p<0.05, ¥¥ p<0.01; ‡ p=0.0001 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

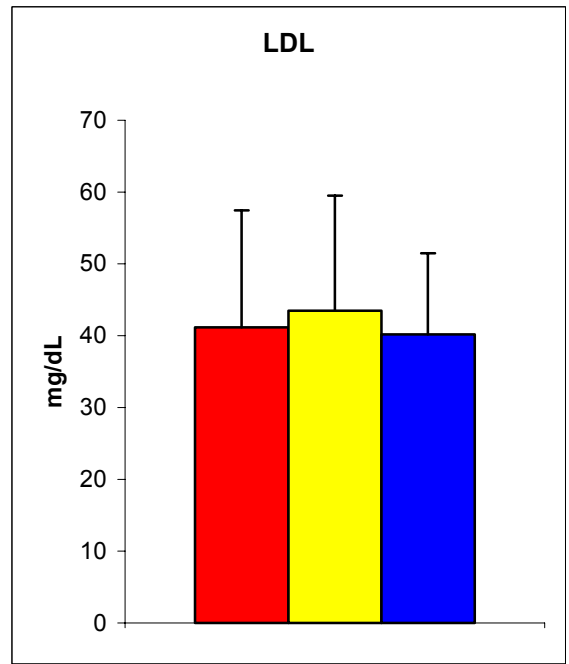
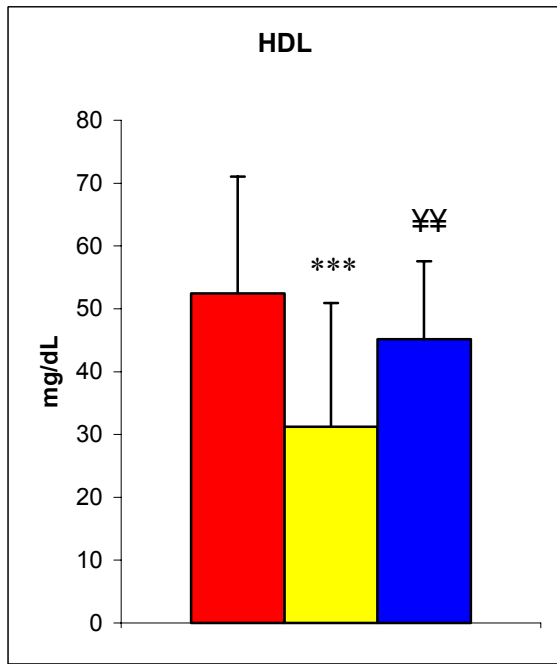
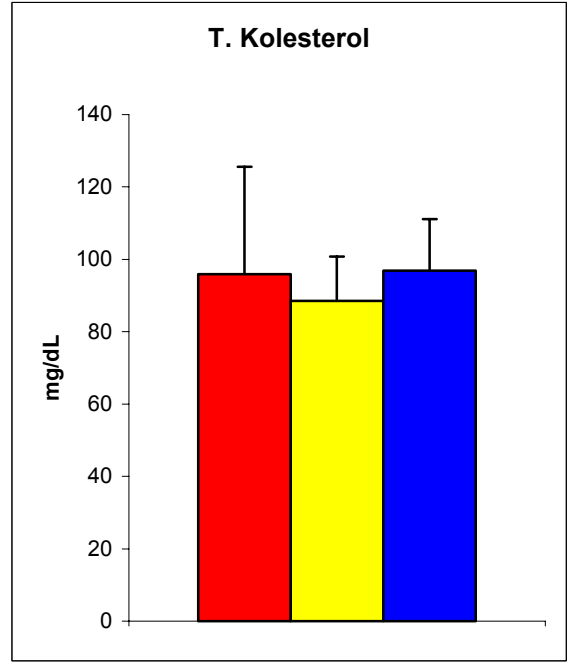
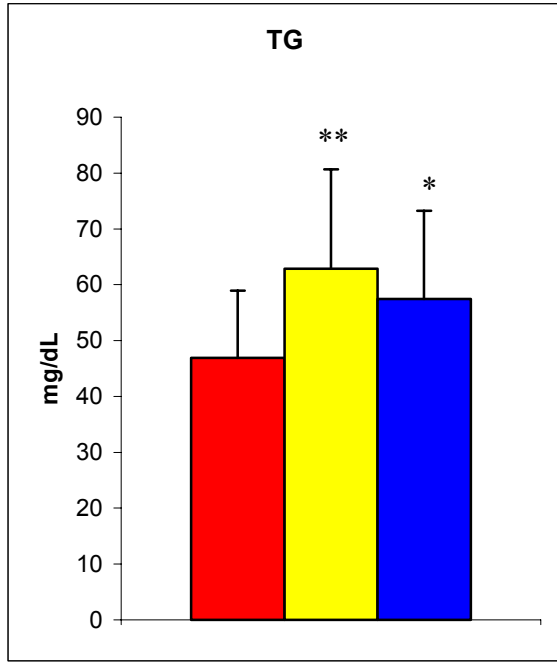
Tablo 14: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametre ortalamaları



** p<0.01, *** p<0.005; • p<0.0005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 †† p<0.01; ‡ p=0.0001 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

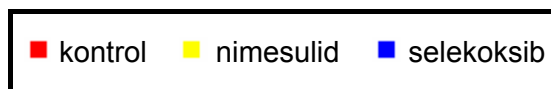
Şekil 12: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler

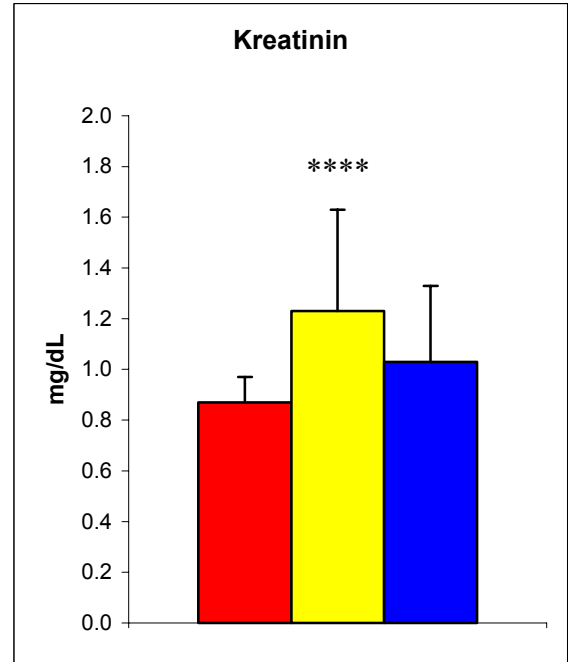
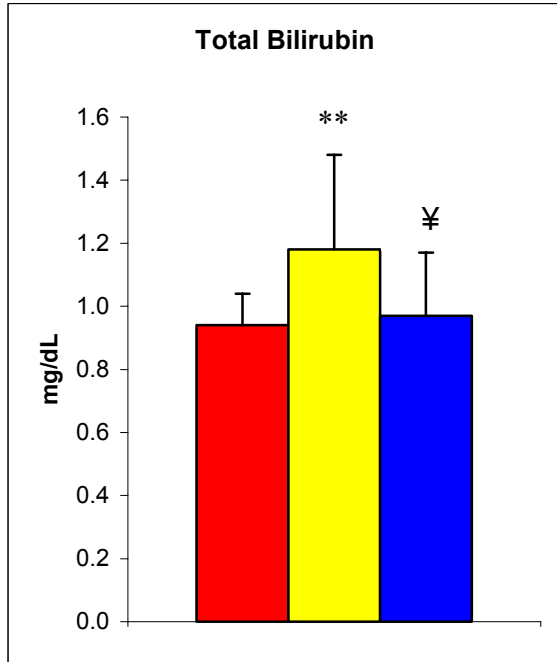
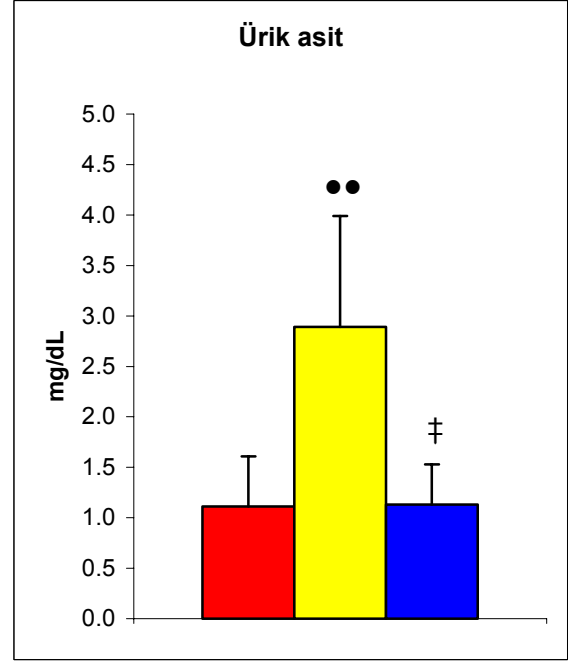
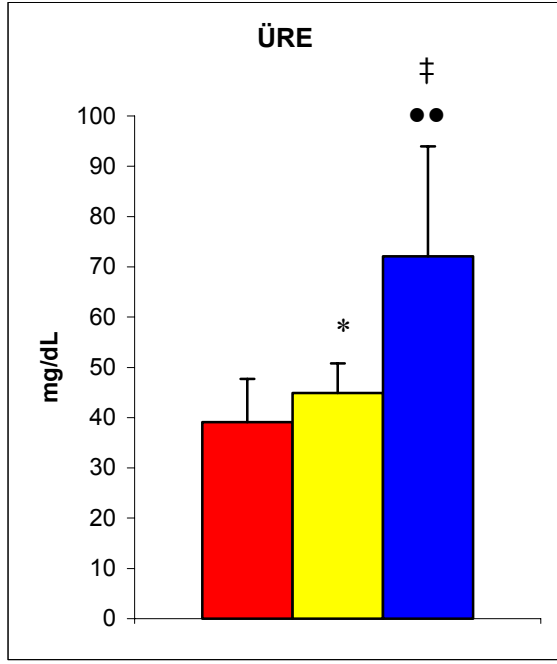




* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 ≠ p<0.01 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

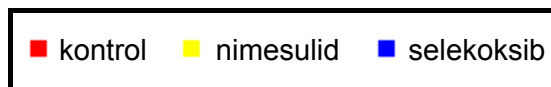
Şekil 13: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler





* p<0.05, ** p<0.01, **** p<0.001; •• p<0.0001 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 ≠ p<0.05; ‡ p=0.0001 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

Şekil 14: Kontrol ve ilaç gruplarındaki biyokimyasal parametreler



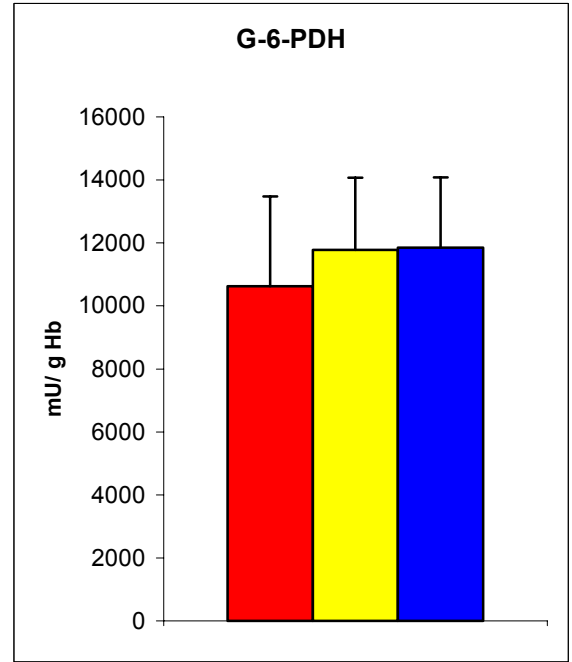
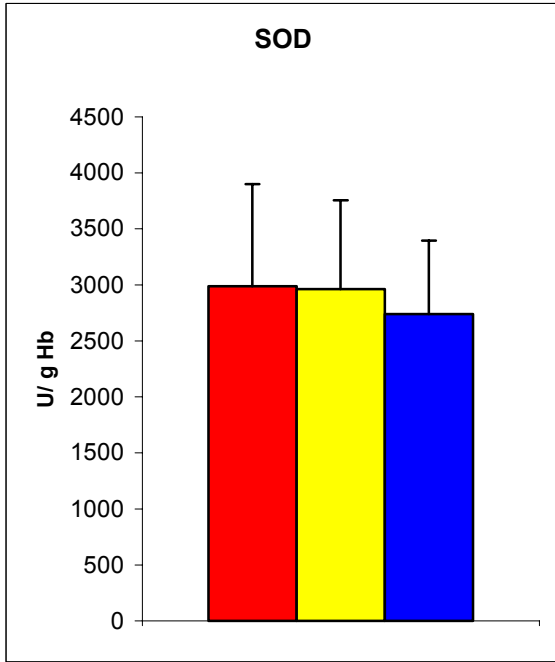
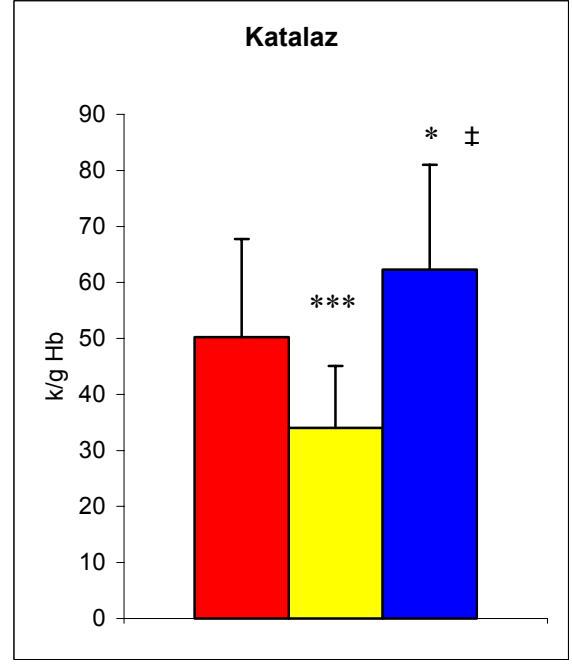
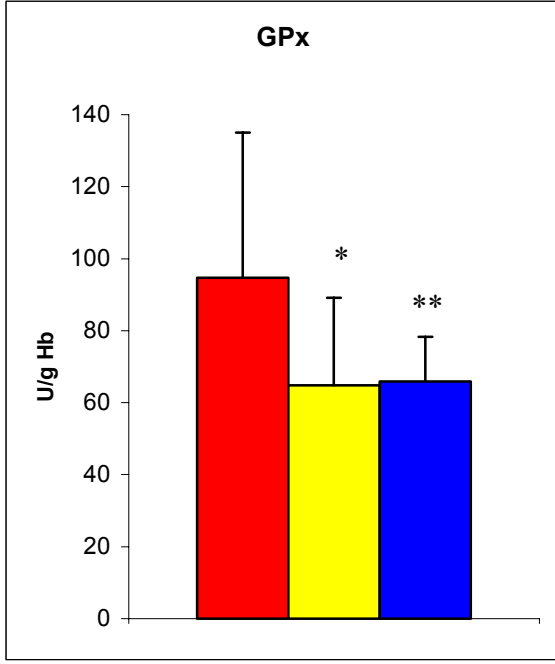
	KONTROL GRUBU	NİMESULİD GRUBU	SELEKOKSİB GRUBU
GPx (U/gHb)	94.76 ± 40.3 (39.1 – 192.4) (n=20)	64.84 ± 24.3* (13.9 – 101.1) (n=15)	65.83 ± 12.5** (42.0 – 93.2) (n=18)
CAT (k/gHb)	50.25 ± 17.5 (18.1 – 74.1) (n=20)	34.07 ± 11.0*** (17.9 – 55.0) (n=16)	62.29 ± 18.7*‡ (37.4 – 97.9) (n=18)
SOD (U/gHb)	2987.19 ± 914.9 (1684.4 – 4925.2) (n=20)	2962.44 ± 791.6 (2140.5 – 4899.9) (n=15)	2739.95 ± 656.0 (1782.5 – 4063.1) (n=18)
G-6-P DH (mU/gHb)	10620.11 ± 2853.41 (5616.17 – 14468.41) (n=15)	11783.10 ± 2286.23 (6425.66 – 14402.65) (n=15)	11845.69 ± 2241.56 (7626.74 – 15615.97) (n=16)
GSH (µmol/g KC)	4.03 ± 1.0 (2.34 – 5.86) (n=15)	3.29 ± 0.9 (2.02 – 4.99) (n=15)	3.64 ± 0.7 (2.19 – 5.26) (n=16)
GSH (µmol/g Böbrek)	1.00 ± 0.5 (0.28 – 2.12) (n=16)	1.01 ± 0.4 (0.51– 2.01) (n=15)	1.50 ± 0.5**¥¥ (0.72 – 2.26) (n=16)
MDA (nmol/ml)	1.45 ± 0.3 (0.85 – 1.99) (n=17)	2.11 ± 0.6 ● (1.47 – 3.46) (n=18)	1.81 ± 0.6* (0.96 – 2.82) (n=17)
Hb (g/dl)	10.67 ± 2.3 (7.58 – 14.5) (n=16)	11.68 ± 1.2 (9.53 – 13.28) (n=15)	9.55 ± 1.6‡ (7.16 – 14.25) (n=24)

Değerler ortalama ± standart sapma(sınır değerler) olarak verilmiştir.

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005; ● p<0.0005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

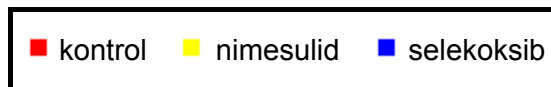
¥¥ p<0.01, ‡ p=0.0001 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

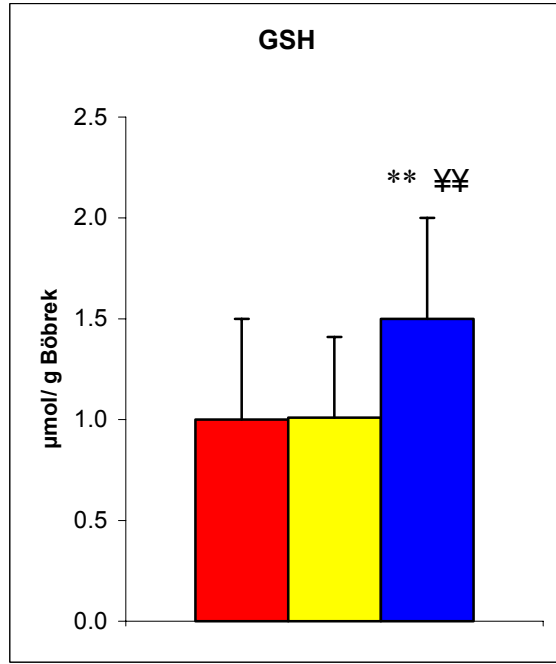
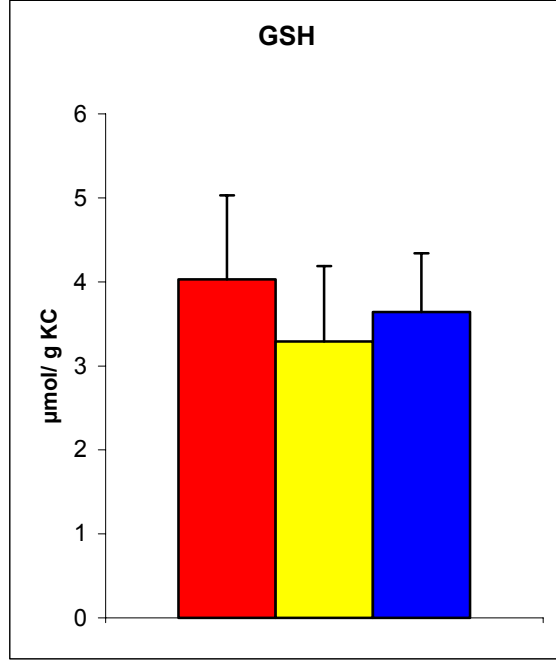
Tablo 15: Kontrol ve ilaç gruplarındaki antioksidan enzim aktivite ve lipid peroksidasyonu değerleri



* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 ‡ p=0.0001 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

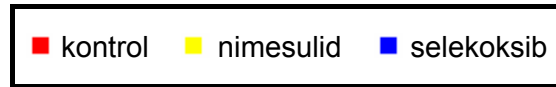
Şekil 15: Kontrol ve ilaç gruplarındaki antioksidan enzim aktiviteleri

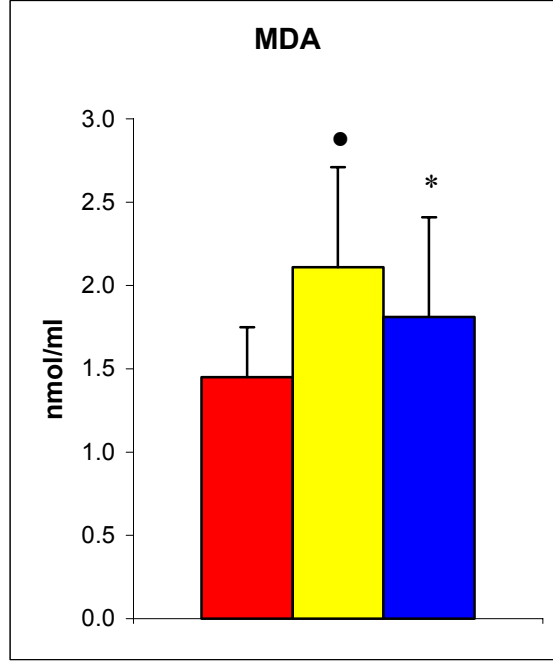




** p<0.01 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 ¥¥ p<0.01 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

Şekil 16: Kontrol ve ilaç gruplarındaki glutatyon değerleri





* $p < 0.05$, • $p < 0.0005$ (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

Şekil 17: Kontrol ve ilaç gruplarındaki lipid peroksidasyonu değerleri



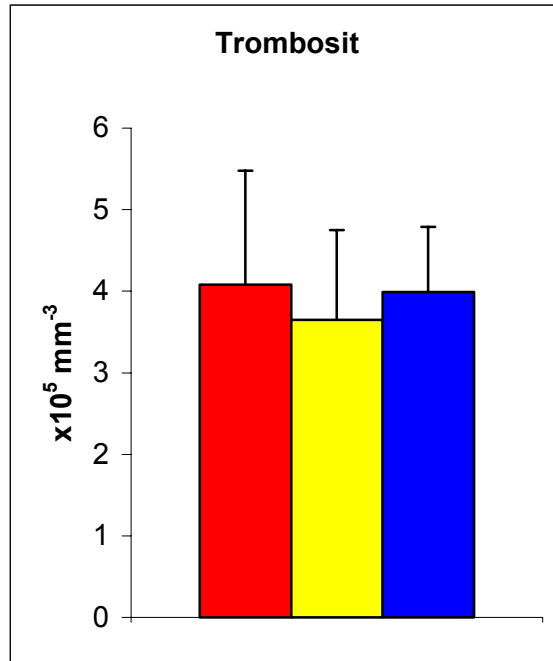
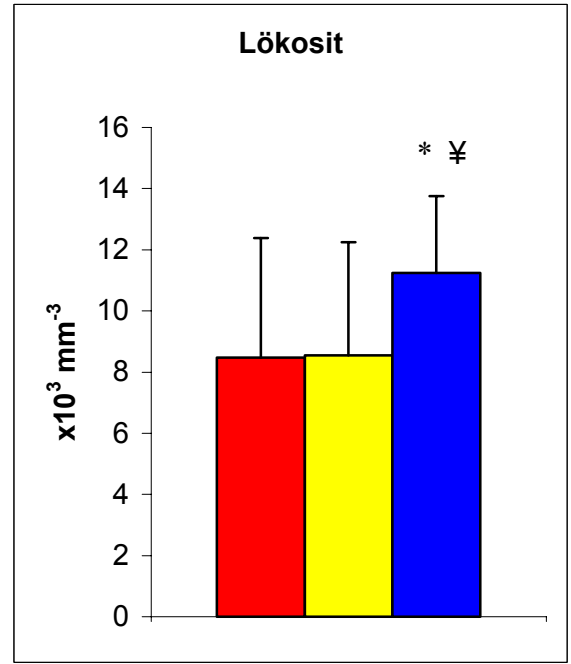
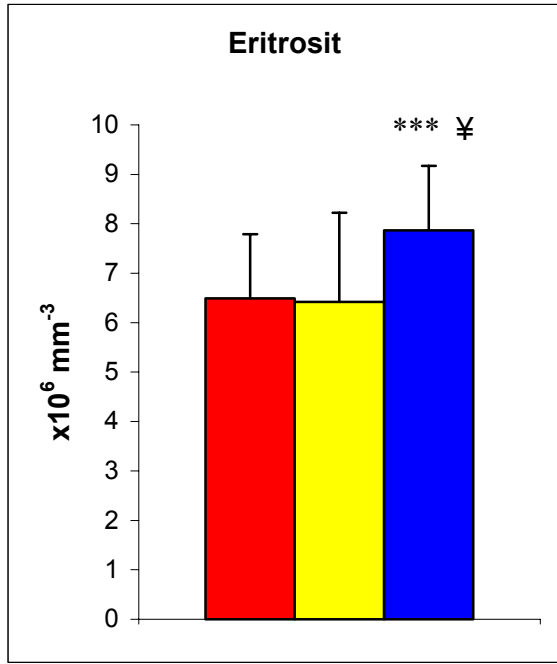
HEMATOLOJİK PARAMETRELER	KONTROL GRUBU	NİMESULİD GRUBU	SELEKOKSİB GRUBU
Eritrosit ($\times 10^6 \text{ mm}^{-3}$)	6.49 \pm 1.3 (3.78 – 8.32) (n=15)	6.42 \pm 1.8 (4.12 – 10.17) (n=15)	7.87 \pm 1.3***¥ (5.18 – 9.98) (n=15)
Lökosit ($\times 10^3 \text{ mm}^{-3}$)	8.48 \pm 3.9 (3.0 – 14.8) (n=15)	8.55 \pm 3.7 (3.0 – 16.8) (n=15)	11.25 \pm 2.5*¥ (6.8 – 14.8) (n=16)
Trombosit ($\times 10^5 \text{ mm}^{-3}$)	4.08 \pm 1.4 (2.10 – 7.71) (n=15)	3.65 \pm 1.1 (1.54 – 5.12) (n=15)	3.99 \pm 0.8 (2.63– 5.22) (n=16)

Değerler ortalama \pm standart sapma (sınır değerler) olarak verilmiştir.

* p<0.05, *** p<0.005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)

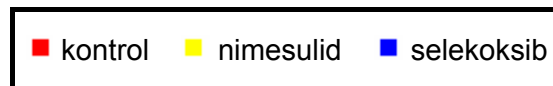
¥ p<0.05 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

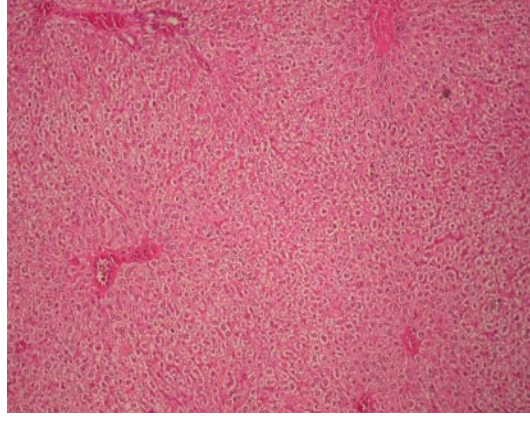
Tablo 16: Kontrol ve ilaç gruplarındaki hematolojik ölçüm ortalamaları



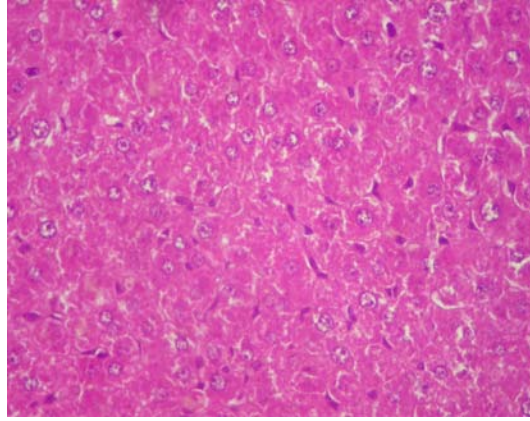
* p<0.05, *** p<0.005 (kontrol grubuna göre anlamlı farklılık)
 ≠ p<0.05 (ilaç grupları arasındaki anlamlı farklılık)

Şekil 18: Kontrol ve ilaç gruplarındaki hematolojik ölçümler

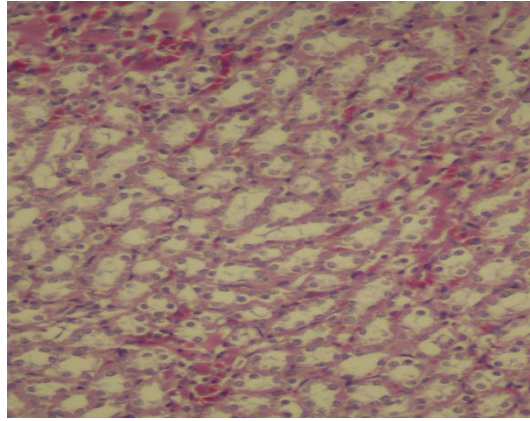




Hepatositlerde hidropik dejeneresans (bulanık şişme) (H.E. X 40)

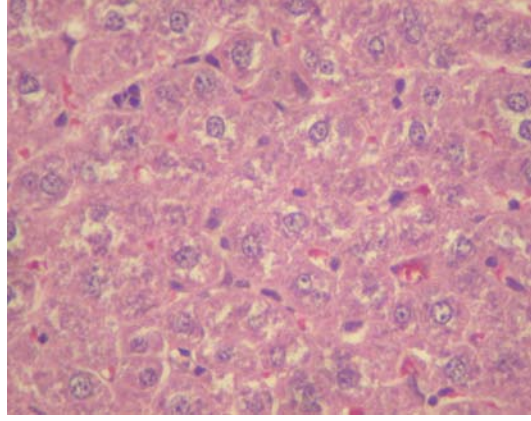


Karaciğerde Kupffer hücre hiperplazisi (H.E. X 100)

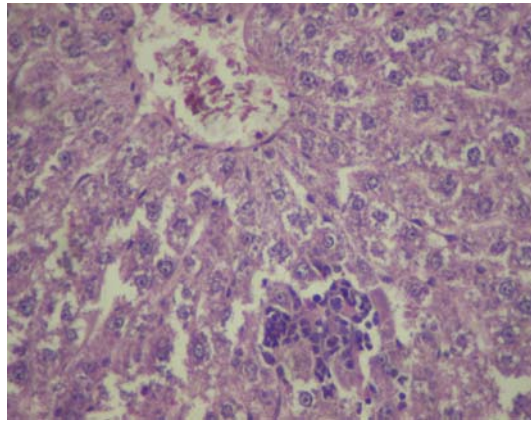


Böbrekte medullada konjesyon. (H.E. X 100)

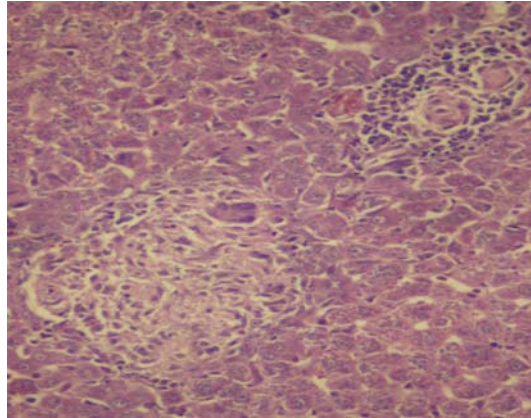
Şekil 19: Nimesulid uygulanan sıçanlarda karaciğer ve böbrek dokuları histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar.



Karaciğerde hafif Kupffer hücre proliferasyonu (H.E. X 400)

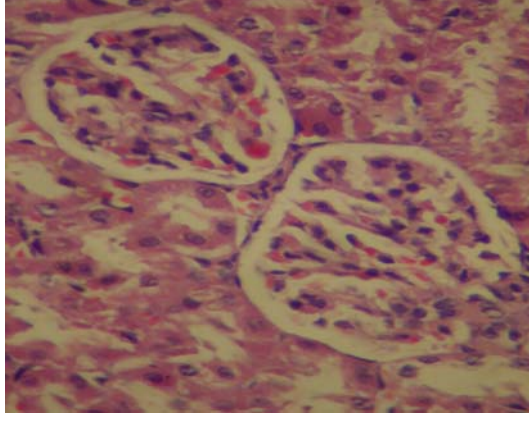


Santral ven yakınında fokal nekroz (H.E. X 200)

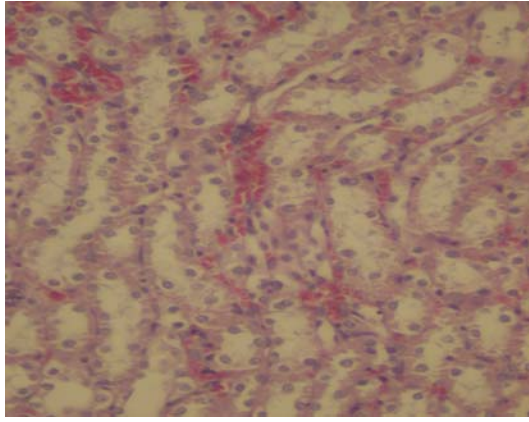


Granülomatoz inflamasyon ve dev hücre bulunan bir odak ile yakınındaki bir inflamasyon odağı (H.E. X 100)

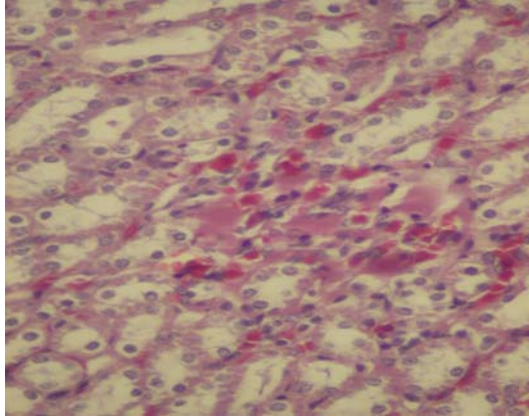
Şekil 20: Selekoksisib uygulanan sıçanlarda karaciğer dokusu histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar



Glomerüllerde daha yoğun konjesyon (H.E. X 200)



Böbreklerde medullada yoğun konjesyon (H.E. X200)



Medullada daha yoğun hyalen kastlar ve konjesyon. (H.E. X 200)

Şekil 21: Selekoksisib uygulanan sıçanlarda böbrek dokusu histopatolojisine ilişkin örnek fotoğraflar

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda gelişim aşamasındaki sıçanlarda, terapötik dozlarda nimesulid uygulaması karaciğerde akut hasar oluşumunu yansıtmaktadır. Histopatolojik incelemelerde görülen değişiklikler ile serum AST, LDH ve ürik asit düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artışlar oluşu, hasarın nimesulidin direkt hepatositler üzerindeki etkisine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Nimesulid ile ilgili bazı vaka raporlarında AST, ALT ve ALP düzeylerinde geçici artışlar olduğu belirtilmiştir (153). 133 hastanın izlendiği diğer bir çalışmada, hastaların 7' sinde karaciğer enzimlerinde (AST, ALT ve ALP) geçici ancak % 20' den fazla bir artış gözlenmiş, 2 hastada serum ürik asit düzeylerinde şüpheli artışlar gözlenmiştir (47).

Chatterjee ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları bir çalışmada, 7 gün süreyle 10 mg/kg dozda nimesulid verilmesi karaciğerde histopatolojik olarak gösterilen sentrilobüler nekroz ve safra kanal proliferasyonuna neden olmuştur (37). Çalışmamızda, karaciğerin histopatolojik değerlendirmesinde yalnızca hidropik dejenerans (2/5 sıçan) ve Kupffer hücre proliferasyonu (2/5 sıçan) saptanmıştır. Total bilirubin düzeylerinde anlamlı bir yükselme görülmeyle birlikte, ulaşılan değer toksisite açısından önemli görünmemektedir. Serum ALP düzeylerinde de kontrollere göre anlamlı farklılık görülmemiştir. Bu durum nimesulidin gelişim aşamasındaki sıçanlarda, en azından terapötik dozlarda, safra kanalları ile ilişkili toksisite oluşturmadığını, direkt olarak hepatositlerde akut hasara neden olduğunu

düşündürmektedir. Karaciğerde Kupffer hücre proliferasyonunun saptanması akut hasar oluşumunu desteklemektedir.

Çalışmamızda spesifik COX-2 inhibitörü olarak selekoksib kullanılmıştır. Histopatolojik incelemede fokal nekroz odakları (2/7 sıçan) ve Kupffer hücre proliferasyonu (1/7 sıçan), portal (1/7 sıçan) ve granülamatöz (2/7 sıçan) inflamasyon saptanmıştır. Serum AST düzeylerinde nimesulide göre daha az, ancak anlamlı düzeyde artış olmasına karşın, nimesulidden farklı olarak LDH ve ürik asit düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. 7400 hastanın izlendiği kontrollü bir klinik çalışmada, selekoksib kullanan hastaların % 0.8' inde, kontrol grubunun % 0.9' unda ve diklofenak sodyum verilen hastaların % 3.7' sinde karaciğer fonksiyon bozukluğu saptanmıştır (102). Diğer çalışmalarda da selekoksib kullanımına bağlı hepatit ve kolestatik hepatit vakaları bildirilmiştir (31,120,155,194). Ensminger ve arkadaşları tarafından yapılan deneysel bir çalışmada ise, selekoksibin deneysel safra hasarı modelinde, kolanjiyografik anormallikleri azalttığı gösterilmiştir (55). Çalışmamızda selekoksib verilen sıçanlarda, serum ALP ve total bilirubin düzeylerinde, kontrollere göre anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Histopatolojik bulgular, selekoksib ile akut hasarı desteklemekle birlikte, biyokimyasal bulgular hasarı yansıtmamaktadır. Çalışmamızda biyokimyasal bulgular, 15-24 hayvandan elde edilen sonuçlardan elde edilmiştir. Histopatolojik incelemeler ise 5-7 hayvanda yapılmıştır. Bu nedenle histopatolojik bulguların, gerçekten ilaçlara bağlı bir etki mi, yoksa deney hayvanlarından kaynaklanan tesadüfi durumlar mı olduğu konusunda yorum yapmak zordur. Histopatolojik değerlendirmelerin

daha fazla sayıda denekte yapılması bu konuda daha doğru yorum yapılmasını sağlayacaktır.

Biyokimyasal bulgular, nimesulide bağlı akut karaciğer hasar varlığını destekler niteliktedir. Bu durum, nimesulidin etkisinin COX-2 enzim inhibisyonundan farklı bir mekanizma ile oluşabileceğini düşündürmektedir. Araştırmalar, nimesulid ile görülen advers hepatik reaksiyonlarda, karaciğerde reaktif metabolitlerin oluşumunun önemli rolü olabileceğini ileri sürmektedir (23). Nimesulidin redüktif biyoaktivasyonu, güçlü reaktiviteye sahip radikaller ve ara ürünlerin oluşumuna neden olur. Oluşan bu ürünler oksidoredüktif strese neden olabilirler ve/veya hedef proteinlere kovalent olarak bağlanarak eklenti (adduct) oluştururlar (43). Chatterjee ve arkadaşlarının çalışmasında, 7 gün süreyle 10 mg/kg dozda nimesulid uygulaması oksidatif strese neden olmuştur. Araştırmacılar, nimesulid ile oluşan karaciğer hasarının, bileşiğin biyoaktivasyonu sonucu oluşan yüksek reaktiviteye sahip metabolitler ve serbest oksijen radikallerinin oluşumuyla ilişkili olduğunu ileri sürmektedirler (37). Nimesulid oksidatif strese neden olmasına karşın, çeşitli araştırmalar nimesulidin antioksidan etkinliğe sahip olduğunu ve farmakolojik etkisinden bu aktivitesinin sorumlu olduğunu ileri sürmektedir (176). İn vitro modellerde sıçan karaciğerinde nimesulid ve metabolitlerinin, konsantrasyona bağımlı olarak MDA oluşumunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. Maffei-Facino ve arkadaşları nimesulidin direkt serbest radikal temizleyici aktivitesini göstermişlerdir (30,58). Çalışmamızda plazma MDA düzeylerinde görülen artış, nimesulidin oksidatif strese neden olduğunu ortaya koymaktadır. Nimesulidin metabolizması sırasında oluşan reaktif ara ürünlerin GSH tüketimine neden olması beklenmektedir. Ancak nimesulid

uygulanan sıçanlarda karaciğerde GSH düzeyi biraz azalmakla birlikte, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Antioksidan enzimler, organizmayı oksidatif strese karşı koruyucu rol oynarlar. SOD, süperoksit anyonlarını nötralize ederek hidrojen peroksit oluşturur. Hidrojen peroksit, CAT ve GPx enzimleri ile parçalanır. Süperoksit anyonu, CAT enzim aktivitesini inhibe ederek hidrojen peroksit birikimine neden olabilir; hidrojen peroksit, SOD' u inhibe eder. Hidrojen peroksitin detoksifiye edilmesinde GPx etkin rol oynar. GPx yeterli olmadığında CAT enzimi devreye girer. Çalışmamızda nimesulid, GPx ve CAT enzim aktivitelerinde azalmaya neden olmuş, selekoksib ise GPx aktivitesinde azalma oluştururken, CAT aktivitesinde artış oluşturmuştur. SOD ve G-6P-DH aktivitelerinde, ilaçların ikisi de değişiklik oluşturmamıştır. Chatterjee ve arkadaşlarının çalışmasında farelerde benzer sonuçlar elde edilmiştir (37). Nimesulid metabolizması sırasında süperoksit anyonu oluşabilmektedir. Ancak nimesulidin süperoksit anyonu ve hidrosil radikali temizleyici aktivitesi de gösterilmiştir (58). COX-2 enzim inhibisyonunun, COX-2 enziminin serbest radikal kaynağı olması nedeniyle, antioksidan aktiviteden sorumlu olabileceği de düşünülmektedir (94). Ancak çalışmamızda karaciğer hasarı oluşumundan, COX-2 enziminden bağımsız olarak, nimesulidin metabolizmasıyla ilişkili lipid peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu sorumlu görünmektedir. Selekoksib uygulaması, çalışmada, plazma MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmuştur. Selekoksibe bağlı oksidatif stresin nedeni anlaşılamamıştır. Selekoksib, metabolizma sonucu inaktif metabolitlerine dönüşür ve literatür araştırmamızda selekoksibin oksidatif stres oluşturduğuna ilişkin herhangi bir

veri bulunamamıştır. Buna karşın, selekoksib tedavisinin, koroner arter hastalığı olan hastalarda ve deneysel hipertansiyon ve endotoksik şok modellerinde oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (180).

Çimen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, selekoksib, ibuprofen ve meloksikamın osteoartritli hastaların eritrositlerinde serbest radikal metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmış ve COX üzerindeki etki mekanizmaları farklı olmasına karşın, üç ilacın da enzimatik ve nonenzimatik antioksidan korunma sistemlerinde bozulmaya neden oldukları saptanmıştır (29). Orhan ve arkadaşlarının NSAİ ilaçların insan eritrositlerinde antioksidan enzimler üzerindeki etkilerini araştırdıkları in vitro çalışmada, nimesulidin diğer NSAİ ilaçlar gibi SOD ve CAT aktivitesinde değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır. Ancak nimesulid ve diklofenak, diğerlerinden farklı olarak GPx aktivitesinde azalma oluşturmuşlardır. Araştırmacılar, bu durumun ilacın kimyasal yapısı ve/veya enzimle direkt etkileşmesine bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (123).

Böbrek fizyolojisi esas olarak COX' a bağımlıdır ve prostaglandinler distal nefron fonksiyonlarını düzenleyerek ve glomerüler hemodinamikleri modüle ederek vasküler tonus ile su ve tuz homeostazını düzenlerler. COX-1, gastrointestinal mukozanın korunmasında, böbreklerin ve trombositlerin normal fonksiyonunda önemli rol oynar. Bu nedenle inhibisyonu NSAİ ilaçların organ ve dokuları ilgilendiren yan etkileriyle sonuçlanır. COX-1 inhibisyonunun NSAİ ilaçların renal advers etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmeye karşın, klinik çalışmalar selekoksib ile NSAİ ilaçların renal etkilerinin benzer olduğunu ortaya koymaktadır (93). Araştırmalar, COX-2' nin yalnızca proinflamatuvar indüklenebilir enzim olmadığını, normal koşullarda

da böbrekte bulunduğunu göstermiştir. Bu nedenle COX-2 inhibitörlerinin renal plazma akımı, glomerüler filtrasyon ve sodyum atılımının azalması gibi bazı yan etkileri, antiinflamatuvar ve analjezik olarak terapötik kullanımlarını sınırlandırmıştır (39,81,108). Çalışmamızda nimesulid, serum üre ve kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışa neden olmakla birlikte, ulaşılan değerler yüksek değildir. Böbreğin histopatolojik incelemesinde de, konjesyon dışında, böbrek hasarına ilişkin değişiklik saptanmamıştır. Spesifik COX-2 inhibitörü selekoksib uygulaması, sıçanlarda serum üre düzeyinde önemli oranda artışa neden olmuştur. Kreatinin düzeyinde de, az oranda olmakla birlikte, anlamlı artış saptanmıştır. Böbrek GSH düzeyinde ise kontrollere göre % 50 oranında artış saptanmıştır. Bu durumun kompensatuvar bir mekanizma olabileceği düşünülmekle birlikte, böbrek antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin saptanmaması bu konuda yorum yapmayı zorlaştırmaktadır. Böbreklerin histopatolojik incelemesinde, yalnızca konjesyon (6/7 sıçan) ve tübüler hyalen kastların varlığı (4/7 sıçan) saptanmıştır. Hyalen kastlar, ileride akut tübüler hasarın olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, solid yükün arttığını gösteren bu durumun nedeni bilinmemektedir. Daha önce vurguladığımız gibi, histopatolojik incelemenin daha fazla denekte ve subselüler düzeyde yapılması, ilaçların etkilerinin daha doğru değerlendirilmesini sağlayacaktır.

Çalışmamızda hem nimesulid hem de selekoksib, trigliserid düzeylerinde önemli artışa neden olmuşlar, total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerinde değişiklik olmamasına karşın, HDL-kolesterol düzeyinde nimesulid kullanımına bağlı azalma saptanmıştır. Literatür taramamızda bu

konuda herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Kardiyovasküler hastalık riski açısından bu verilerin değerlendirilmesi önemli görünmektedir.

NSAİ ilaçların önemli advers etkilerinden birisi, hematopoietik sistem üzerindeki etkileridir. Nimesulidin oral tek dozu ve günde tek doz 5 günlük tekrarlanan uygulamalarından sonra, adenozin difosfat, araşidonik asit ya da kollajene bağlı in vitro trombosit agregasyonu değerlendirilmiş, tek ya da tekrarlanan dozlarda trombosit aktivasyonunu kontrollere göre % 50 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir. Ancak, ilacın hemorajik komplikasyonlarına ilişkin hiçbir klinik veri bulunmamaktadır (32,183). Normal bireylere klinik dozun çok üzerindeki dozlarda, 10 gün süreyle selekoksib (600 mg/gün) verilerek yapılan bir çalışmada da trombosit fonksiyonlarında herhangi bir değişme gözlenmemiştir (82,124). Diğer yandan bazı çalışmalarda selekoksib alan hastaların % 0.1-2' sinde hematolojik yan etkiler görülmüştür (67). Çalışmamızda, tam kan hücre sayımı yapılmış, nimesulid kullanımının herhangi bir etkisi görülmemiştir. Buna karşın selekoksib uygulaması, eritrosit ve özellikle lökosit sayısında artmaya neden olmuştur. Bu verilerin klinik açıdan önemi üzerinde durulması önemli görünmektedir.

Çalışma sonuçlarımız, nimesulidin gelişim aşamasındaki sıçanlarda karaciğer hasarına neden olduğunu ve bu etkinin olasılıkla nimesulidin nitroredüktif biyoaktivasyonuna bağlı oksidatif stres, reaktif radikallerin oluşumu ve antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Selekoksib ile böbrek hasarı oluşmasına karşın, COX-2' nin selektif inhibitörü nimesulid ile benzer toksisitenin görülmemesi, nimesulidin kullanılan dozlarda COX-2 izoformu üzerindeki etkisinin yeterli olmaması ile ilişkili olabilir. Nimesulid toksisitesinin yaş, cinsiyet, ilacın metabolizması ve

dağılımıyla ilişkili olarak değiştiği ileri sürölmektedir. Selekoksibin de dişi cinste daha yavaş elimine edildiği, ancak çocuklarda klerensinin yüksek olduğuna ilişkin bulgular bulunmaktadır (131).

İlaçların etkilerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması açısından deney hayvanlarında, karaciğer ve böbreklerde:

- COX-1/COX-2 tayininin yapılması,
- İlaçlar ve ilişkili metabolitlerinin kinetiğinin incelenmesi,
- Serbest radikal oluşumunun belirlenmesi,
- Lipid peroksidasyonun ve antioksidan enzim aktivitelerinin tayini,
- Histopatolojik incelemelerin daha fazla denekte ve subselöler düzeyde yapılması gerekli görünmektedir.

Çalışmanın deneysel inflamasyon modellerinde de tekrarlanması, COX-2 izoformunda, inflamasyonla tetiklenen değişiklikler üzerinde ilaçların etkilerinin ve antioksidan aktivitelerinin değerlendirilmesi açısından tamamlayıcı bir çalışma olacaktır.

VI. ÖZET

Nimesulid, tercihli COX-2 inhibitörü nonsteroidal antiinflamatuvar bir ilaçtır ve bu yüzden klinik kullanımda güvenli olduğu kabul edilmektedir. Ancak son zamanlarda nimesulidin durumu advers ilaç etkileşmelerinin rapor edilmesini takiben çocuklarda ölüm vakalarının bildirilmesi nedeniyle sorgulanır hale gelmiştir. Bu çalışmada dört haftalık dişi sıçanlarda spesifik COX-2 inhibitörü bir ilaç olan selekoksib ile karşılaştırarak nimesulidin toksisitesini araştırmayı amaçladık.

Her iki ilaç sıçanlara oral gavaj yolu ile 14 gün süreyle uygulanmıştır. Karaciğer ve böbrek hasarları serumda biyokimyasal parametrelerin ölçülmesiyle ve dokuda histopatolojik inceleme ile değerlendirilmiştir. Nimesulid oksidatif stresi indükleyebilmesine karşın, serbest radikal temizleyici etki de gösterir. Bu yüzden antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine her iki ilacın etkilerini araştırdık. Karaciğer ve böbrek dokusunda GSH düzeylerini de tayin ettik.

Sonuçlarımız nimesulid uygulanan sıçanlarda karaciğer hasarına ve selekoksib uygulanan sıçanlarda böbrek hasarına işaret etmektedir. Her iki ilaç kontroller ile karşılaştırıldığında MDA üretimini anlamlı derecede artırmış ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olmuştur.

Nimesulidin oksidatif stresle ilişkili olarak, reaktif ara ürünlere metabolik aktivasyonu sonucu karaciğer hasarına neden olabildiğini ve 4 haftalık dişi sıçanlarda enzimatik antioksidan savunma ile nimesulidin

etkileşebileceğini öne sürmekteyiz. Altta yatan mekanizmaların anlaşılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

VII. SUMMARY

Nimesulide, a non-steroidal anti-inflammatory drug, is a preferential COX-2 inhibitor and therefore, assumed to be safer in clinical use. However, recently the status of nimesulide became questionable following reports of adverse drug reactions, leading to fatalities in children. In this study, we aimed to investigate its toxicity in four-weeks old female rats, comparing with those of celecoxib, a specific COX-2 inhibitor.

Both drugs were given to rats by oral gavage for 14 days. Liver and kidney damages were evaluated by measuring of biochemical parameters in serum and by histopathological examination of tissues. Although nimesulide may induce oxidative stress, it can also act as the free radical scavenger. Therefore we also investigated effect of two drugs on the activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation. We also determined GSH levels in liver and kidneys.

Results indicated liver damage in rats-treated with nimesulide and renal damage in rats-treated with celecoxib. Both drugs increased MDA production significantly and caused changes on the activity of antioxidant enzymes as compared with controls.

We suggest that nimesulide may cause liver damage through either the metabolic activation of drug to reactive intermediates that have been implicated in oxidative stress and interaction of nimesulide with enzymatic antioxidant defense in 4-weeks old female rats. Further studies are needed for better understanding of underlying mechanisms.

VIII. KAYNAKLAR

1. Addis A., Bonati M., "Use of nimesulide in children" Lancet 1999 Sep. 18; 354 (9183); 1034.
2. Aebi H., "Catalase in vitro." Methods Enzymol. 1984; 105: 121-6.
3. Ahmad SR., Kortepeter C., Brinker A., Chen M., Beitz J., "Renal failure associated with the use of celecoxib and rofecoxib." Drug Saf. 2002; 25(7): 537-44.
4. Akkuş İ., Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları No: 38, Sağlık dizisi 5, 1995, Konya.
5. Alho H., Leinonen J., "Total antioxidant activity measured by chemiluminescence methods." Methods Enzymol. 1999; 299: 3-15.
6. Altinkaynak K., Suleyman H., Akcay F., "Effect of nimesulide, rofecoxib and celecoxib on gastric tissue glutathione level in rats with indomethacin-induced gastric ulcerations." Pol J Pharmacol. 2003 Jul-Aug; 55(4): 645-8.
7. Ames BN., Shigenaga MK., Hagen TM., "Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging." Proc Natl Acad Sci USA. 1993 Sep 1; 90(17): 7915-22.
8. Andri L., Senna G., Betteli C., Givanni S., Scaricabarozzi I., Mezzelani P., Andri G., "Tolerability of nimesulide in aspirin-sensitive patients." Ann Allergy. 1994 Jan; 72 (1): 29-32.

9. Anon. "Searle warns on celebrex interaction." *Scrip* 1999 Jun 2-4(2442-2443): 23
10. Ardoin SP., Sundry JS., "Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs." *Curr Opin Rheumatol.* 2006 May; 18(3): 221-6.
11. Babior BM., Woodman RC., "Chronic granulomatous disease." *Semin Hematol.* 1990 Jul; 27(3): 247-59.
12. Bauer MK., Lieb K., Schulze-Osthoff K., Berger M., Gebicke-Haerter PJ., Bauer J., Fiebich BL., "Expression and regulation of cyclooxygenase-2 in rat microglia." *Eur J Biochem.* 1997 Feb 1; 243(3): 726-31.
13. Beiche F., Scheuerer S., Brune K., Geisslinger G., Goppelt-Struebe M., "Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation." *FEBS Lett.* 1996 Jul 22; 390(2): 165-9.
14. Bellamy N., Buchanan WW., Goldsmith CH., Campbell J., Stitt LW. "Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee." *J Rheumatol.* 1988 Dec; 15(12): 1833-40.
15. Bennett A, Villa G., "Nimesulide: an NSAİ that preferentially inhibits COX-2, and has various unique pharmacological activities." *Expert Opin Pharmacother.* 2000 Jan; 1(2): 277-86.
16. Bennett A., "The importance of COX-2 inhibition for aspirin induced asthma." *Thorax* 2000; 55: 54-56.

17. Bennett A., "Overview of nimesulide" *Rheumatology* 1999; 38 (Suppl.1): 1-3.
18. Bensen WG., Fiechtner JJ., McMillen JI. et al., "Treatment of osteoarthritis with celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor: a randomized controlled trial." *Mayo Clin Proc.* 1999; 74: 1095-1105.
19. Bernareggi A., "The pharmacokinetic profile of nimesulide in healthy volunteers" *Drugs* 1993; 46 Suppl.1: 64-72.
20. Berson A., Wolf C., Berger V., Fau D., Chachaty C., Fromenty B., Pessayre D., "Generation of free radicals during the reductive metabolism of the nitroaromatic compound, nilutamide." *J Pharmacol Exp Ther.* 1991 May; 257(2): 714-9.
21. Bianco S., Robuschi M., Petrigli G., Scuri M., Pieroni MG., Refini RM., Vaghi A., Sestini PS., "Efficacy and tolerability of nimesulide in asthmatic patients intolerant to aspirin." *Drugs* 1993; 46 Suppl 1: 115-20.
22. Bjarnason I., Thjodleifsson B., "Gastrointestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: the effect of nimesulide compared with naproxen on the human gastrointestinal tract." *Rheumatology (Oxford)* 1999 May; 38 Suppl 1: 24-32.
23. Boelsterli U.A., "Mechanisms of NSAID-induced hepatotoxicity: focus on nimesulide." *Drug Saf.* 2002; 25(9): 633-48.
24. Bottcher I., Schweizer A., Glatt M., Werner H., "A sulphonamido-indanone derivative CGP 28237 (ZK 34228), a novel non-steroidal anti-inflammatory agent without gastro-intestinal ulcerogenicity in rats" *Drugs Exp. Clin. Res.* 1987; 13(5): 237-45.

25. Botting R.M., "Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927-2004)" *Journal of Therm. Biol.* 2006; 31: 208-219.
26. Bree F., Nguyen P., Urien S., Albengres E., Macciocchi A., Tillement JP., "Nimesulide binding to components within blood." *Drugs* 1993; 46 Suppl 1: 83-90.
27. Brewster UC., Perazella MA., "Acute tubulointerstitial nephritis associated with celecoxib." *Nephrol Dial Transplant.* 2004 Apr; 19(4): 1017-8.
28. Breyer MD., "COX2 selective NSAIDs and renal function: gain without pain?" *Kidney Int.* 1999 Feb; 55(2): 738-9.
29. Burak Cimen MY., Cimen OB., Eskandari G., Sahin G., Erdogan C., Atik U., "In vivo effects of meloxicam, celecoxib, and ibuprofen on free radical metabolism in human erythrocytes." *Drug Chem Toxicol.* 2003 Aug; 26(3): 169-76.
30. Candelario-Jalil E., Sonia Leon O., "Effects of nimesulide on kainate-induced in vitro oxidative damage in rat brain homogenates." *BMC Pharmacol.* 2003 Jun 14; 3:7
31. Carrillo-Jimenez R., Nurnberger M., "Celecoxib-induced acute pancreatitis and hepatitis: a case report." *Arch Intern Med.* 2000 Feb 28; 160(4): 553-4.
32. Ceserani R., Carboni L., Germini M., "Antipyretic and platelet antiaggregating effects of nimesulide" *Drugs* 1993; 46 Suppl.1: 48-51.

33. Ceserani R., Casciarri I., Cavalletti E., "Action of nimesulide on rat gastric prostaglandins and renal function" *Drug Invest.* 1991; 3 Suppl.2: 14-21.
34. Chakraborty I., Das SK., Wang J., Dey SK., "Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids." *J Mol Endocrinol.* 1996 Apr; 16(2): 107-22.
35. Chance B., Sies H., Boveris A., "Hydroperoxide metabolism in mammalian organs." *Physiol Rev.* 1979 Jul; 59(3): 527-605.
36. Chandrasekharan NV., Dai H., Roos KL., Evanson NK., Tomsik J., Elton TS., Simmons DL., "COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expression." *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 Oct 15; 99(21):13926-31.
37. Chatterjee M., Sarkar K., Sil PC., "Herbal (*Phyllanthus niruri*) protein isolate protects liver from nimesulide induced oxidative stress" *Pathophysiology* 2006 May; 13(2): 95-102.
38. Chenevard R., Hurliman D., Bechir M. et al, "Selective COX-2 inhibition improves endothelial function in coronary artery disease." *Circulation* 2003; 107: 405-9.
39. Cheng HF., Wang JL., Zhang MZ., Miyazaki Y., Ichikawa I., McKanna JA., Harris RC. "Angiotensin II attenuates renal cortical cyclooxygenase-2 expression." *J Clin Invest.* 1999 Apr; 103(7): 953-61.

40. Chu FF., Doroshow JH., Esworthy RS., "Expression, characterization and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI." *J Biol Chem.* 1993 Feb 5; 268(4): 2571-6.
41. Clemett D., Goa KL., "Celecoxib: a review of its use in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and acute pain" *Drugs* 2000 Apr.; 59(4): 957-980.
42. Clive DM., Stoff JS., "Renal syndromes associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs." *N Engl J Med.* 1984 Mar 1; 310(9): 563-72.
43. Cribb AE., Miller M., Leeder JS., Hill J., Spielberg SP., "Reactions of the nitroso and hydroxylamine metabolites of sulfamethoxazole with reduced glutathione. Implications for idiosyncratic toxicity." *Drug Metab Dispos.* 1991 Sep-Oct; 19(5): 900-6.
44. Cunietti E., Monti M., Vigano A., D'Aprile E., Saligari A., Scafuro E., Scaricabarozzi I., "Nimesulide in the treatment of hyperpyrexia in the aged. Double-blind comparison with paracetamol" *Arzneimittelforschung* 1993 Feb; 43(2): 160-2.
45. Çavdar C., Sifil A., Çamsarı T., "Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma" *Türk Nefroloji ve Transplantasyon Dergisi* 1997: 3-4: 92-95.
46. Davies NM., "Review article: Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal permeability." *Aliment Pharmacol Ther.* 1998 Apr; 12(4): 303-20.
47. Davis R., Brogden R.N., "Nimesulide. An update of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy" *Drugs* 1994 Sep; 48(3): 431-54.

48. De Ferreyra EC., Bernacchi AS., Castro JA., "Increased glutathione (GSH) content in livers of control and carbon tetrachloride poisoned rats treated with the anticalmodulin drug trifluoperazine (TFP)." *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 1986 Sep; 53(3): 399-402.
49. de Zwart LL., Meerman JH., Commandeur JN., Vermeulen NP., "Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans." *Free Radic Biol Med*. 1999 Jan; 26(1-2): 202-26.
50. Del Rio D., Stewart AJ., Pellegrini N., "A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress." *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005 Aug; 15(4): 316-28.
51. Devasagayam TP., Tilak JC., Bloor KK., Sane KS., Ghaskadbi SS., Lele RD., "Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects" *J Assoc Physicians India* 2004 Oct; 52: 794-804.
52. Dreiser RL., Benevelli DC., "Long term tolerability profile of nimesulide in the treatment of osteoarthritis." *Drugs* 1993; 46 Suppl 1: 270-4.
53. Ellenhorn M.J. (ed.), Schonwald S., Ordog G. and Wasserberger J., *Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, 2nd Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1997.
54. Emery P., Zeidler H., Kvien TK. et al. "Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison." *Lancet* 1999; 354: 2106-11.

55. Ensminger W., Knol J., DeRemer S., Wilkinson E., Walker S., Williams D., Maybaum J., "Effects of dexamethasone or celecoxib on biliary toxicity after hepatic arterial infusion of 5-fluorodeoxyuridine in a canine model." *Cancer Res.* 2004 Jan 1; 64(1): 311-5.
56. Esteve JB., Launay-Vacher V., Brocheriou I., Grimaldi A., Izzedine H., "COX-2 inhibitors and acute interstitial nephritis: case report and review of the literature." *Clin Nephrol.* 2005 May; 63(5): 385-9.
57. Facino R.M., Carini M, Aldini G, Saibene L, Morelli R., "Differential inhibition of superoxide, hydroxyl and peroxy radicals by nimesulide and its main metabolite 4-hydroxynimesulide." *Arzneimittelforschung* 1995 Oct; 45(10): 1102-9.
58. Facino R.M., Carini M., Aldini G., "Antioxidant activity of nimesulide and its main metabolites" *Drugs* 1993; 46 Suppl 1: 15-21.
59. Famaey JP., "In vitro and in vivo pharmacological evidence of selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide: an overview." *Inflamm Res.* 1997 Nov; 46(11): 437-46.
60. Fau D., Berson A., Eugene D., Fromenty B., Fisch C., Pessayre D., "Mechanism for the hepatotoxicity of the antiandrogen, nilutamide. Evidence suggesting that redox cycling of this nitroaromatic drug leads to oxidative stress in isolated hepatocytes." *J Pharmacol Exp Ther.* 1992 Oct; 263(1): 69-77.
61. FDA Advisory Committee Briefing Document. NDA 20-998/S-009: Celebrex Capsules (Celecoxib): Medical Officer Review 2000; http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/01/briefing/3677b1_03_med.doc

62. Fitzgerald GA., Patrono C. "The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2." *N Eng J Med.* 2001; 345: 433-42.
63. Fridovich I., "Biological effects of the superoxide radical." *Arch. Biochem Biophys.* 1986 May 15; 247(1): 1-11.
64. Fu JY., Masferrer JL., Seibert K., Raz A., Needleman P., "The induction and suppression of prostaglandin H₂ synthase (cyclooxygenase) in human monocytes." *J Biol Chem.* 1990 Oct 5; 265(28): 16737-40.
65. Galati G., Tafazoli S., Sabzevari O., Chan TS., O'Brien PJ., "Idiosyncratic NSAID drug induced oxidative stress." *Chem Biol Interact.* 2002 Nov 10; 142(1-2): 25-41.
66. Garavito RM. "The cyclooxygenase-2 structure: new drugs for an old target?" *Nat Struct Biol.* 1996 Nov; 3(11): 897-901.
67. GD Searle and Company. Celecoxib prescribing information., 1999, Dec 23, Skokie, Illinois.
68. Geis GS, Hubbard RC, Yu S, Zhao W. "Efficacy and tolerability of celecoxib: a comparison of once-daily vs twice-daily dosing." *Arthritis Rheum.* 1999;42 suppl.:144.
69. Geis GS., Hubbard R., Callison D., Yu S., Zhao W. "Safety and efficacy of celecoxib, a specific COX-2 inhibitor in patients with rheumatoid arthritis." *Arthritis Rheum.* 1998.
70. Geis GS., Hubbard RC., Woods EM., Lefkowitz JB., Yu S., Zhao W. "Efficacy of celecoxib, a COX-2 specific inhibitor, in osteoarthritis of the hip." *Arthritis Rheum.* 1999; 42 suppl.: 144.

71. Goldenberg MM., "Celecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthritis." *Clin Ther.* 1999; 21: 1497-513.
72. Goldstein J., "The clinical developments and future of the COX-2 inhibitor drugs" *Inflammopharmacology* 2001 9(1,2): 91-99.
73. Goyal PK., Chandra J., Unnikrishnan G., Kumari S., Passah SM., "Double blind randomized comparative evaluation of nimesulide and paracetamol as antipyretics" *Indian Pediatr.* 1998 Jun; 35(6): 519-22.
74. Gupta S, McCune WJ, Kaplan MJ, et al., "Thrombosis and ischemia in patients with systemic lupus erythematosus treated with celecoxib: a series of two cases" *Arthritis Rheum.* 1999; 42 Suppl.:149.
75. Halliwell B., "Antioxidants in human health and disease" *Annu Rev Nutr.* 1996; 16: 33-50.
76. Halliwell B., "Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?" *Review J Neurochem.* 2006 Jun; 97(6): 1634-58.
77. Halliwell B., Aruoma OI., "DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems." *FEBS Letters* 1991; 281: 9-19.
78. Halliwell B., Chirico S., "Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance." *Am J Clin Nutr.* 1993 May; 57(5 Suppl): 715-725.
79. Halliwell B., Gutteridge JM., "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease." *Biochem J.* 1984 Apr 1; 219(1): 1-14.
80. Halliwell B., Gutteridge JM., *Free radicals in biology and medicine.* Third Edition Oxford Science Publications, 22-24.

81. Harris RC., McKanna JA., Akai Y., Jacobson HR., Dubois RN., Breyer MD. "Cyclooxygenase-2 is associated with salt macula densa of rat kidney and increases with salt restriction." *J Clin Invest.* 1994 Dec; 94(6): 2504-10.
82. Henao J., Hisamuddin I., Nzerue CM., Vasandani G., Hewan-Lowe K., "Celecoxib-induced acute interstitial nephritis." *Am J Kidney Dis.* 2002 Jun; 39(6): 1313-7.
83. Hoffmann C., "COX-2 in brain and spinal cord implications for therapeutic use." *Curr Med Chem.* 2000 Nov; 7(11): 1113-20.
84. Irish Medicinal Board, Drug Safety Newsletter 2003 17th Ed. "Nimesulide, safety update" Drug Safety Issue no: 17, 1-2.
85. Johnson AG., "NSAIDs and increased blood pressure. What is the clinical significance?" *Drug Saf.* 1997 Nov; 17(5): 277-89.
86. Jordan KM., Edwards CJ., Arden NK., "Allergic vasculitis associated with celecoxib." *Rheumatology (Oxford).* 2002 Dec; 41(12): 1453-5.
87. Jurna I., Spohrer B., Bock R., "Intrathecal injection of acetylsalicylic acid, salicylic acid and indomethacin depresses C fibre-evoked activity in the rat thalamus and spinal cord." *Pain.* 1992 May; 49(2): 249-56.
88. Karim A., Tolbert D., Piergies A., Hubbard RC., Harper K., Wallemark CB., Slater M., Geis GS. "Celecoxib does not significantly alter the pharmacokinetics or hypoprothrombinemic effect of warfarin in healthy subjects." *J Clin Pharmacol.* 2000 Jun; 40(6): 655-63.
89. Karim A., Tolbert DS., Hunt TL., Hubbard RC., Harper KM., Geis GS. "Celecoxib, a specific COX-2 inhibitor, has no significant effect on

- methotrexate pharmacokinetic in patients with rheumatoid arthritis." *J Rheumatol.* 1999; 26(12): 2539-43.
90. Karim A., Tolbert DS., Piergies A., Bradford D., Slater M., Paulsen S. "Celecoxib biotransformation: fluconazole but not ketoconazole substantially increases celecoxib exposure in man." [Abstract] *Pharm Res.* 1998; 1 suppl.: 626.
91. Kast RE., "Tumor necrosis factor has positive and negative self regulatory feed back cycles centered around cAMP." *Int J Immunopharmacol.* 2000 Nov; 22(11): 1001-6.
92. Kayaalp O., *Tıbbi Farmakoloji*, 10. Baskı Hacettepe-Taş Kitapçılık 2002. sa 960.
93. Khan KNM., Paulson SK., Verburg KM., Lefkowitz JB., Maziasz TJ., "Pharmacology of cyclooxygenase-2 inhibition in the kidney." *Kidney International* 2002; 61: 1210-1219.
94. Kiefer W., Dannhardt G., "COX-2 inhibition and the control of pain." *Curr Opin Investig Drugs* 2002 Sep; 3(9): 1348-58.
95. Kono Y., Fridovich I., "Superoxide radical inhibits catalase." *J Biol Chem.* 1982 May 25; 257(10): 5751-4.
96. Kosaka T., Miyata A., Ihara H., Hara S., Sugimoto T., Takeda O., Takahashi E., Tanabe T., "Characterization of the human gene (PTGS2) encoding prostaglandin-endoperoxide synthase 2." *Eur J Biochem.* 1994 May 1; 221(3): 889-97.
97. Kulkarni S.K., "On the safety of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor" *Current Science* 2002; 83(12)25:1442-43.

98. Lecomte J., Monti T., Pochobradsky MG., "Antipyretic effects of nimesulide in paediatric practice: a double-blind study." *Curr Med Res Opin.* 1991; 12(5): 296-303.
99. Leese PT., Hubbard RC., Karim A., Isakson PC., Yu SS., Geis GS., "Effects of celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, on platelet function in healthy adults: a randomized, controlled trial." *J Clin Pharmacol.* 2000 Feb; 40(2): 124-32.
100. Leone R., Conforti A., Ghiotto E., Moretti U., Valvo E., Velo GP., "Nimesulide and renal impairment." *Eur J Clin Pharmacol.* 1999 Apr; 55(2): 151-4.
101. Lucena MI., Camargo R., Andrade RJ., Perez-Sanchez CJ., Sanchez De La Cuesta F., "Comparison of two clinical scales for causality assessment in hepatotoxicity." *Hepatology* 2001 Jan; 33(1): 123-30.
102. Maddrey WC., Maurath CJ., Verburg KM., Geis GS., "The hepatic safety and tolerability of the novel cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib." *Am J Ther.* 2000 May; 7(3): 153-8.
103. Mamdani M., Juurlink DN., Lee DS., Rochon PA., Kopp A., Naglie G., Austin PC., Laupacis A., Stukel TA., "Cyclo-oxygenase-2 inhibitors versus non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and congestive heart failure outcomes in elderly patients: a population-based cohort study." *Lancet* 2004 May 29; 363(9423): 1751-6.
104. Mantle D., Preedy VR., "Free radicals as mediators of alcohol toxicity." *Adverse Drug React Toxicol Rev.* 1999 Nov; 18(4): 235-52.
105. Markowitz GS., Falkowitz DC., Isom R., Zaki M., Imaizumi S., Appel GB., D'Agati VD., "Membranous glomerulopathy and acute interstitial

- nephritis following treatment with celecoxib." Clin Nephrol. 2003 Feb; 59(2): 137-42.
106. Mason RP., Holtzman JL., "The mechanism of microsomal and mitochondrial nitroreductase. Electron spin resonance evidence for nitroaromatic free radical intermediates." Biochemistry 1975 Apr 22; 14(8): 1626-32.
107. Mates JM., Perez-Gomez C., Nunez de Castro I., "Antioxidant enzymes and human diseases." Clin Biochem. 1999 Nov; 32(8): 595-603.
108. McAdam BF., Catella-Lawson F., Mardini IA., Kapoor S., Lawson JA., FitzGerald GA. "Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2." Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 272-7.
109. McCord JM., "SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision" Biomedical pharmacotherapy 2005 59: 139-142.
110. Meister A., Anderson ME., "Glutathione." Annu Rev Biochem. 1983; 52: 711-60.
111. Mercan U., "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi" YYU Vet Fak Derg. 2004, 15 (1-2): 91-96.
112. Misra HP., Fridovich I., "The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase." J Biol Chem. 1972 May 25; 247(10): 3170-5.
113. Mukherjee D., Nissen SE., Topol EJ., "Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors." JAMA 2001; 286: 954-59.

114. Mutaf I., "Experimental diyabette plazma ve doku lipid peroksidleri."
Uzmanlık tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1990.
115. Needleman P., Isakson PC., "The discovery and function of COX-2."
J Rheumatol Suppl. 1997 Jul; 49: 6-8.
116. Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N., "Lipid peroxidation:
mechanisms, inhibition, and biological effects." Biochem Biophys Res
Commun. 2005 Dec 9; 338(1): 668-76.
117. Njalsson R., Norgren S., "Physiological and pathological aspects of
GSH metabolism." Acta Paediatr. 2005 Feb; 94(2): 132-7.
118. Nunez-Vergara LJ., Farias D., Bollo S., Squella JA., "An
electrochemical evidence of free radicals formation from flutamide
and its reactivity with endo/xenobiotics of pharmacological relevance."
Bioelectrochemistry 2001 Jan; 53(1): 103-10.
119. Nunez-Vergara LJ., Sturm JC., Olea-Azar C., Navarrete-Encina P.,
Bollo S., Squella JA., "Electrochemical, UV-visible and EPR studies
on nitrofurantoin: nitro radical anion generation and its interaction with
glutathione." Free Radic Res. 2000 May; 32(5): 399-409.
120. O'Beirne JP., Cairns SR., "Drug Points: Cholestatic hepatitis in
association with celecoxib." BMJ. 2001 Jul 7; 323(7303): 23.
121. Olive G., Rey E., "Effect of age and disease on the pharmacokinetics
of niimesulide" Drugs 1993; 46 (Suppl.1): 73-78.
122. Onat T., Emerk K., Temel Biyokimya, Saray Medikal Yay., İzmir, 1997
123. Orhan H., Dogruer DS., Cakir B., Sahin G., Sahin MF., "The in vitro
effects of new non-steroidal antiinflammatory compounds on

- antioxidant system of human erythrocytes." *Exp Toxicol Pathol.* 1999 Jul; 51(4-5): 397-402.
124. Ortiz M., Mon C., Fernandez MJ., Sanchez R., Mampaso F., Alvarez Ude F., "Tubulointerstitial nephritis associated with treatment with selective COX-2 inhibitors, celecoxib and rofecoxib" *Nefrologia* 2005; 25(1): 39-43.
125. Oshima M., Dichuk JE., Kargman SL. *et al.* "Suppression of intestinal polyposis in *Apc*⁷¹⁶ knockout mice by inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2)." *Cell* 1996; 87: 803-9.
126. Ozaki N., Beharry K., Nishihara KC., Akmal Y., Ang JG., Modanlou HD., "Differential regulation of prostacyclin and thromboxane by dexamethasone and celecoxib during oxidative stress in newborn rabbits." *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002 Sep; 70(1-2): 61-78.
127. Ozturk H., Gezici A., Ozturk H., "The effect of celecoxib, a selective COX-2 inhibitor, on liver ischemia/reperfusion-induced oxidative stress in rats." *Hepatol Res.* 2006 Feb; 34(2): 76-83.
128. Paglia DE., Valentine WN., "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase." *J Lab Clin Med.* 1967 Jul; 70(1): 158-69.
129. Patrignani P., Panara MR., Greco A., Fusco O., Natoli C., Iacobelli S., Cipollone F., Ganci A., Creminon C., Maclouf J. *et al.* "Biochemical and pharmacological characterization of the cyclooxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases." *J Pharmacol Exp Ther.* 1994 Dec; 271(3): 1705-12.

130. Paulson SK., Hribar JD., Liu NW., Hajdu E., Bible RH Jr., Piergies A., Karim A. "Metabolism and excretion of [(14)C]celecoxib in healthy male volunteers." *Drug Metab Dispos.* 2000 Mar; 28(3): 308-14.
131. Paulson SK., Zhang JY., Breau AP., Hribar JD., Liu NW., Jessen SM., Lawal YM., Cogburn JN., Gresk CJ., Markos CS., Maziasz TJ., Schoenhard GL., Burton EG., "Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism and excretion of celecoxib in rats." *Drug Metab Dispos.* 2000 May; 28(5): 514-21.
132. Penning TD., Talley JJ., Bertenshaw SR., Carter JS., Collins PW., Docter S., Graneto MJ., Lee LF., Malecha JW., Miyashiro JM., Rogers RS., Rogier DJ., Yu SS., Anderson GD., Burton EG., Cogburn JN., Gregory SA., Koboldt CM., Perkins WE., Seibert K., Veenhuizen AW., Zhang YY., Isakson PC., "Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib)" *J Med Chem.* 1997 Apr 25; 40(9): 1347-65.
133. Perazella MA., "COX-2 selective inhibitors: analysis of the renal effects." *Expert Opin Drug Saf.* 2002 May; 1(1): 53-64.
134. Perazella MA., Tray K., "Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: a pattern of nephrotoxicity similar to traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs." *Am J Med.* 2001 Jul; 111(1): 64-7.
135. Picot D., Loll PJ., Garavito RM., "The X-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1." *Nature* 1994 Jan 20; 367(6460): 243-9.

136. Pleban PA., Munyani A., Beachum J., "Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes." *Clin Chem.* 1982 Feb; 28(2): 311-6.
137. Poza-Guedes P., Gonzalez-Perez R., Canto G., "Celecoxib-induced lupus-like syndrome." *Rheumatology (Oxford)* 2003 Jul; 42(7): 916-7.
138. Rainsford KD., "Relationship of nimesulide safety to its pharmacokinetics: assessment of adverse reactions" *Rheumatology (Oxford)* 1999 May; 38 Suppl 1: 4-10.
139. Ray AW., Stein M., Daugherty JR. et al., "COX-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of serious coronary heart disease." *Lancet* 2002; 360: 1071-74.
140. Reddy BS., Hirose Y., Lubet R., Steele V., Kelloff G., Paulson S., Seibert K., Rao CV., "Chemoprevention of colon cancer by specific cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib, administered during different stages of carcinogenesis." *Cancer Res.* 2000 Jan 15; 60(2): 293-7.
141. Reuter BK., Wallace JL., "Phosphodiesterase inhibitors prevent NSAID enteropathy independently of effects on TNF-alpha release." *Am J Physiol.* 1999 Oct; 277(4 Pt 1): 847-54.
142. Rieder MJ., Shear NH., Kanee A., Tang BK., Spielberg SP., "Prominence of slow acetylator phenotype among patients with sulfonamide hypersensitivity reactions." *Clin Pharmacol Ther.* 1991 Jan; 49(1): 13-7.
143. Riendeau D., Percival MD., Brideau C., Charleson S., Dube D., Ethier D., Falguyret JP., Friesen RW., Gordon R., Greig G., Guay J., Mancini J., Ouellet M., Wong E., Xu L., Boyce S., Visco D., Girard Y.,

- Prasit P., Zamboni R., Rodger IW., Gresser M., Ford-Hutchinson AW., Young RN., Chan CC. "Etoricoxib (MK-0663): preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2." *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Feb; 296(2): 558-66.
144. Ristimaki A., Narko K., Hla T., "Down-regulation of cytokine-induced cyclo-oxygenase-2 transcript isoforms by dexamethasone: evidence for post-transcriptional regulation." *Biochem J.* 1996 Aug 15; 318 (Pt 1): 325-31.
145. Ritter CL., Malejka-Giganti D., "Nitroreduction of nitrated and C-9 oxidized fluorenes in vitro." *Chem Res Toxicol.* 1998 Nov; 11(11): 1361-7.
146. Roos D., "The respiratory burst of phagocytic leukocytes" *Drug Invest.* 1991; 3 Suppl. 2: 48-53.
147. Ruddy S., Harris ED., Sledge CB., (eds.). *Kelley's Textbook of Rheumatology.* 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001.p.1055-70.
148. Ruoff GE., "The impact of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on hypertension; alternative analgesics for patients at risk." *Clin Ther* 1998; 20: 376-87.
149. Saito T., Rodger IW., Hu F. et al, "Inhibition of cyclooxygenase-2 improves cardiac function in myocardial infarction." *Biochem Biophys Res Comm.* 2000; 273: 772-75.
150. Samad TA., Moore KA., Sapirstein A., Billet S., Allchorne A., Poole S., Bonventre JV., Woolf CJ., "Interleukin-1beta-mediated induction of

Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity.”
Nature 2001 Mar 22; 410(6827): 471-5.

151. Satoh K., “Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method.” Clin Chim Acta 1978 Nov 15; 90(1): 37-43.
152. Sbeit W., Krivoy N., Shiller M., Farah R., Cohen HI., Struminger L., Reshef R., “Nimesulide-induced acute hepatitis.” Ann Pharmacother. 2001 Sep; 35(9): 1049-52.
153. Schattner A., Sokolovskaya N, Cohen J., “Fatal hepatitis and renal failure during treatment with nimesulide.” J Intern Med. 2000 Jan; 247(1):153-5.
154. Scheuren N., Jacobs M., Ertl G. et al. “Cyclooxygenase-2 in myocardium stimulation by angiotensin-II in cultured cardiac fibroblasts and role at acute myocardial infarction.” J Moll Cell Cardiol. 2002; 34: 29-37.
155. Schneider F., Meziani F., Chartier C., Alt M., Jaeger A. “Fatal allergic vasculitis associated with celecoxib.” Lancet 2002 Mar 9; 359(9309): 852-3.
156. Searle/Pfizer. Health Care Professional letter [online]. Available from <http://www.fda.gov/medwatch/safety/1999celebr.htm>. Accessed 10 Jan 2000.
157. Senna GE., Passalacqua G., Andri G., Dama AR., Albano M., Fregonese L., Andri L., “Nimesulide in the treatment of patients intolerant of aspirin and other NSAIDs” Drug Saf. 1996 Feb; 14(2): 94-103.

158. Sevanian A., Ursini F., "Lipid peroxidation in membranes and low-density lipoproteins: similarities and differences." *Free Radic Biol Med.* 2000 Aug; 29(3-4): 306-11.
159. Sharma V.K., Srivastav R., Sharma S., Rohtagi D., "Comparative efficacy and safety of Nimesulide vs Piroxicam in Osteoarthritis" *Indian Journal of Orthopaedics* 1999 July; 33 (3): 212-216.
160. Sies H., "Oxidative stress: from basic research to clinical application." *Am J Med.* 1991 Sep 30; 91(3C): 31-38.
161. Silverstein FE., Faich G., Goldstein JL. et al., "For the Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial." *JAMA* 2000; 284: 1247-55.
162. Simon LS., Lanza FL., Lipsky PE., Hubbard RC., Talwalker S., Schwartz BD., Isakson PC., Geis GS., "Preliminary study of the safety and efficacy of SC-58635, a novel cyclooxygenase 2 inhibitor: efficacy and safety in two placebo-controlled trials in osteoarthritis and rheumatoid arthritis, and studies of gastrointestinal and platelet effects." *Arthritis Rheum.* 1998 Sep; 41(9): 1591-602.
163. Simon LS., Weaver AL., Graham DY. et al., "Antiinflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis." *J Am Med Assoc.* 1999; 282: 1921-8.
164. Smith WL., Lands WE., "Stimulation and blockade of prostaglandin biosynthesis." *J Biol Chem.* 1971 Nov; 246(21): 6700-2.

165. Solomon SD., McMurray JJ., Pfeffer MA., Wittes J., Fowler R., Finn P., Anderson WF., Zauber A., Hawk E., Bertagnolli M.; Adenoma Prevention with Celecoxib (APC) Study Investigators., "Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention." *N Engl J Med.* 2005 Mar 17; 352(11): 1071-80.
166. Southorn PA., Powis G., "Free radicals in medicine. II. Involvement in human diseases" *Mayo Clin. Proc.* 1988; 63: 390-408.
167. Södergren, E. "Lipid peroxidation *in vivo*. Evaluation and application of methods for measurement." Doktora Tezi, Acta Universitatis Upsaliensis Faculty of Medicine 2000.
168. Squella JA., Gonzalez P., Bollo S., Nunez-Vergara LJ., "Electrochemical generation and interaction study of the nitro radical anion from nimesulide." *Pharm Res.* 1999 Jan; 16(1): 161-4.
169. Steinbach G., Lynch PM., Phillips RK. et al., "The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis." *N Engl J Med.* 2000 Jun 29; 342(26): 1946-52.
170. Steinhäuslin F., Munafo A., Buclin T., Macciocchi A., Biollaz J., "Renal effects of nimesulide in furosemide-treated subjects." *Drugs.* 1993; 46 Suppl 1: 257-62.
171. Stillman MT., Schlesinger PA., "Nonsteroidal anti-inflammatory drug nephrotoxicity. Should we be concerned?" *Arch Intern Med.* 1990 Feb; 150(2): 268-70.
172. Sullivan JR., Shear NH., "The drug hypersensitivity syndrome: what is the pathogenesis?" *Arch Dermatol.* 2001 Mar; 137(3): 357-64.

173. Swingle KF., Moore GGI., "Pre-clinical pharmacological studies with nimesulide" *Drugs Exp. Clin. Res.* 1984; 10: 587-97.
174. Tanaka K., Shimotori T., Makino S., "Pharmacological studies of the new antiinflammatory agent 3-formylamino-7-methylsulfonylamino-6-phenoxy-4H-1-benzopyran-4-one: Antiinflammatory, analgesic and other related properties" *Arzneimittel Forschung* 1992; 42: 935-44.
175. Tang C., Shou M., Mei Q., Rushmore TH., Rodrigues AD. "Major role of human liver microsomal cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) in the oxidative metabolism of celecoxib, a novel cyclooxygenase-II inhibitor." *J Pharmacol Exp Ther.* 2000 May; 293(2): 453-9.
176. Tardieu D., Jaeg JP., Deloly A., Corpet DE., Cadet J., Petit CR., "The COX-2 inhibitor nimesulide suppresses superoxide and 8-hydroxy-deoxyguanosine formation, and stimulates apoptosis in mucosa during early colonic inflammation in rats." *Carcinogenesis* 2000 May; 21(5): 973-6.
177. Taylor A., "Role of nutrients in delaying cataracts." *Ann N Y Acad Sci.* 1992 Sep 30; 669: 111-23; discussion 123-4.
178. Tazawa R., Xu XM., Wu KK., Wang LH., "Characterization of the genomic structure, chromosomal location and promoter of human prostaglandin H synthase-2 gene". *Biochem Biophys Res Commun.* 1994 Aug 30; 203(1): 190-9.
179. Thawani V., Sontakke S., Gharpure K., Pimpalkhute S. "Nimesulide: The current controversy", *Indian J. Pharmacology* 2003; 35: 121-122.
180. Tive L., "Celecoxib clinical profile" *Rheumatology* 2000; 39(suppl.2): 21-28.

181. Traversa G., Bianchi C., Da Cas R., Abraha I., Menniti-Ippolito F., Venegoni M., "Cohort study of hepatotoxicity associated with nimesulide and other non-steroidal anti-inflammatory drugs." *BMJ*. 2003 Jul 5; 327(7405): 18-22.
182. Trepanier LA., Miller JL., "NADH-dependent reduction of sulphamethoxazole hydroxylamine in dog and human liver microsomes." *Xenobiotica* 2000 Dec; 30(12): 1111-21.
183. Van Steenberghe W., Peeters P., De Bondt J., Staessen D., Buscher H., Laporta T., Roskams T., Desmet V., "Nimesulide-induced acute hepatitis: evidence from six cases." *J Hepatol*. 1998 Jul; 29(1): 135-41.
184. Velo GP., "The antiinflammatory, analgesic and antipyretic activity of nimesulide in experimental models" *Drug Invest*. 1991; 3 Suppl.2: 10-3.
185. Ward A., Brogden RN., "Nimesulide. A preliminary review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in inflammation and pain states." *Drugs* 1988 Dec; 36(6): 732-53.
186. Warner B.B., Wispe J. R., "Transgenic models for the study of lung injury and repair " *Lung Biology in Health and Disease*. Marcel Decker, New York, s: 139-158.
187. Warrington SJ., Ravic M., Dawnay A., "Renal and general tolerability of repeated doses of nimesulide in normal subjects." *Drugs* 1993; 46 Suppl 1: 263-9.
188. White WB., Faich G., Whelton A. et al., "Comparison of thromboembolic events in patients treated with celecoxib, a

- cyclooxygenase-2 specific inhibitor, versus ibuprofen or diclofenac.”
Am J Cardiol. 2002; 89: 425-30.
189. Willoughby DA., Moore AR., Colville-Nash PR., “COX-1, COX-2 and COX-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease.”
Lancet 2000 Feb 19; 355(9204): 646-8.
190. Yagi K., “Assay for blood plasma or serum.” Methods Enzymol. 1984; 105: 328-31.
191. Yazıcı H., “Nonstroidal antiinflamatuvar ilaçlar ve Lüsyen Hanım Sendromu” İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı ilaç Kullanımı Sempozyumu 14 Ocak 1999, s. 87-95.
192. Zhao SZ., Mcmillen JI., Markenson JA. et al., “Evaluation of the functional status aspects of health-related quality of life of patients with osteoarthritis treated with celecoxib.” Pharmacotherapy 1999; 19: 1269-78.
193. Zimmermann KC., Sarbia M., Schror K., Weber AA., “Constitutive cyclooxygenase-2 expression in healthy human and rabbit gastric mucosa.” Mol Pharmacol. 1998 Sep; 54(3): 536-40.
194. Zinsser P., Meyer-Wyss B., Rich P., “Hepatotoxicity induced by celecoxib and amlodipine” Swiss Med Wkly. 2004 Apr 3; 134(13-14): 201.

ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Muğla'da doğdum. 1984 yılında E.Ü. Eczacılık Fakültesi'nde lisans eğitimime başladım. 1989 yılında öğrenimimi tamamladıktan sonra 1990 yılı Şubat döneminde E.Ü. Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda ilk yüksek lisans eğitimime başladım. 1992 Mayıs ayında Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'na araştırma görevlisi olarak girdikten sonra 1993 Ocak ayında Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki yüksek lisans eğitimimi tamamladım ve aynı yıl Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 1996 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamlayarak doktora eğitimime başladım. 2001 yılında Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda öğretim görevlisi kadrosuna atandım. Halen aynı görevi sürdürmekteyim.