



# Rat Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Hasarının Tenoksikam ile Önlenmesi

## Prevention of Rat Lower Extremity Ischemia Reperfusion Injury With Tenoxicam

Yücel ÖZGÜR<sup>1</sup>, Saniye Deniz ÖZZEYBEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yedikule Göğüs Hastahkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi  
Correspondence Address

### Yücel ÖZGÜR

Yedikule Göğüs Hastahkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, İstanbul, Türkiye

E-posta: anstz@hotmail.com

Geliş tarihi \ Received : 30.09.2019

Kabul tarihi \ Accepted : 11.12.2019

Elektronik yayın tarihi : 30.09.2020

Online published

Bu makaleye yapılacak atıf:

Cite this article as:

Özgür Y, Özzybek SD. Rat alt ekstremitte iskemi reperfüzyon hasarının tenoksikam ile önlenmesi. Akd Tıp D 2020;3:418-23.

Yücel Özgür

ORCID ID: 0000-0003-2203-4802

Saniye Deniz Özzybek

ORCID ID: 0000-0002-5812-436X

Bu çalışma, birinci yazarın ikinci yazar danışmanlığında hazırladığı doktora tezinden üretilmiştir. Çalışma 2008 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD. bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

### ÖZ

**Amaç:** Alt ekstremitte uzun süren iskemi/reperfüzyon (İ/R) lokal dokuda belirgin kas hasarına neden olur. Bu çalışmada alt ekstremitte İ/R modelinde bir COX-2 inhibitörü olan tenoksikamın antioksidan etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Erkek Wistar ratlarda anestezi verilmesini takiben sol alt ekstremitteye 3 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Çalışmaya, her birinde 7 denek bulunan 4 grup dâhil edildi. Denekler Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (İ/R, Sham), Grup 3 (İ/R, 2,5 mg/kg Tenoksikam) ve Grup 4 (İ/R, 10 mg/kg Tenoksikam) gruplarına ayrıldı. Tenoksikam 3 saatlik iskeminin ardından hemen intraperitoneal olarak uygulandı. 24 saatlik reperfüzyon dönemi sonunda gastrocnemius kasından örnekler alınarak, elektron mikroskopunda incelendi.

**Bulgular:** Elektron mikroskopi ile yapılan çalışmada Grup 2’de, Grup 1’e göre belirgin doku hasarı tespit edildi (p=0,005). Grup 2’de yoğun lökosit infiltrasyonu, nekroz, ödem, sarkoplazmik retikulum dilatasyonu, mitokondri kristallerinde silinme, miyofibril dezorganizasyonu gözlemlendi. Grup 3 ve Grup 4’de, Grup 2’ye kıyasla özellikle sarkoplazmik retikulum dilatasyonu, mitokondri kristallerinde silinme ve miyofibril dezorganizasyonu anlamlı olarak düşük bulundu (Sırasıyla p=0,007 ve p=0,006). Grup 3 ve Grup 4’de daha az histopatolojik etkilenme oldu. Tenoksikamın, doza bağlı olarak histolojik değişiklikleri önlediği gözlemlendi.

**Sonuç:** Alt ekstremitte İ/R hasarında belirgin histopatolojik değişiklikler ortaya çıkar. Tenoksikamın kas dokusu iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede koruyucu bir etkisi olduğu görülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** İskemi reperfüzyon, Tenoksikam, Alt ekstremitte, Rat, Histopatoloji

### ABSTRACT

**Objective:** Prolonged ischemia / reperfusion (I/R) in the lower extremity causes significant muscle damage to the local tissue. In this study, it was aimed to investigate the antioxidant activity of tenoxicam, a COX-2 inhibitor, in rat lower extremity I/R model.

**Material and Methods:** Following anesthesia, 3-hour ischemia and 24-hour reperfusion were applied to the left lower extremity in male Wistar rats. The study included 4 groups, each with 7 subjects. Subjects were divided into Group 1 (Control), Group 2 (I/R, Sham), Group 3 (I/R, 2.5 mg/kg Tenoxicam), and Group 4 (I/R, 10 mg/kg Tenoxicam). Tenoxicam was administered intraperitoneally immediately after 3 hours of ischemia. At the end of the 24-hour reperfusion period, samples were taken from the gastrocnemius muscle and examined under an electron microscope.

**Results:** In the study performed with electron microscopy, significant tissue damage was detected in Group 2 compared to Group 1 (p=0.005). In Group 2, intense leukocyte infiltration, necrosis, edema, dilatation of sarcoplasmic reticulum, loss of mitochondrial crystals, and myofibril disorganization were observed. In Group 3 and Group 4, sarcoplasmic reticulum dilatation, disappearance of cristae mitochondria, and myofibril disorganization were significantly lower than in Group 2 (p=0.007 and p=0.006, respectively). There was less histopathological involvement in Group 3 and Group 4. Tenoxicam was observed to prevent dose-dependent histological changes.

**Conclusion:** Significant histopathological changes occur in lower extremity I/R injury. Tenoxicam appears to have a protective effect in preventing muscle tissue ischemia-reperfusion injury.

**Key Words:** Ischemia-reperfusion, Tenoxicam, Lower extremity, Rat, Histopathology

DOI: 10.17954/amj.2020.2352

## GİRİŞ

Kas dokusu, diğer dokular (örneğin kalp ve beyin dokusu) ile karşılaştırıldığında iskemiye daha dirençlidir. Çünkü 5-7 saat süre ile metabolik kapasitesini kullanabilir. Belirgin morfolojik değişimlerin 2 saatlik iskemi süresi ardından başladığı gözlemlenmiştir (1). Bununla beraber cerrahi işlem bitiminde alınan biyopsi örneklerinde yalnızca 15-90 dakikalık iskemi sonrası kas dokusu yapısında özellikle hücre organelli düzeyinde mitokondri ve endoplamik retikulum hasarı, kontraktıl materyal yoğunlaşması, lizozom artışı gibi patolojik değişimler saptanmıştır (2).

İskemi reperfüzyonda tüm mekanizmalarda Siklooksijenaz (COX) enziminin rol oynadığı çalışmalarla gösterilmiştir (3-5). Dupouy ve ark. ratlarda alt ekstremitede yaptıkları İskemi/Reperfüzyon (İ/R) çalışmasında, 2 saatlik iskemi süresinin ardından COX-2 protein sentezinin 10. saatte, COX-1 sentezinin 72. saatte belirgin olarak yükseldiğini bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada kas hasarının belirtisi olan kreatin kinaz (CK), reperfüzyonun 24. saatinde ve ödem oluşumu ise 10. saatte en yüksek değerlerine ulaşmıştır (3).

Patel ve ark. rodentlerde böbrek İ/R çalışmasında selektif COX-2 inhibitörü olan parekoksib ile böbrek hasarının belirtileri olan tubuler, glomerüler yetmezliğin azaldığını saptamışlardır. COX-2'nin böbreklerde İ/R hasarının oluşumunda önemli bir konuma sahip olduğunu belirtmişlerdir (5).

Tenoksikam, *oksikam* grubundan tionetiyazin türevidir bir nonsteroidal antiinflatuar ilaçtır (NSAİİ) (6). Diğer NSAİİ'ler gibi siklooksijenazı inhibe ederek prostaglandinlerin sentezini baskılar. Nonselektif COX<sub>2</sub> inhibitörüdür. COX<sub>2</sub>, inflamasyon olan bölgede indüklenir; mitojenler, sitokinler ve endotoksinlerce stimüle edilir, inflamasyonu artırır. Araşidonik asitten lipoksijenaz yollarıyla oluşan metabolitlerden özellikle lökotrienler, lökositlerin vasküler endotele yapışmasını hızlandırır ve reperfüzyon hasarının derecesini belirleyen postkapiller permeabiliteyi artırır. İskemi devam ederse lizozimler aracılığı ile hücre nekrozu ortaya çıkar (1).

Tenoksikamın anti-inflatuar etkinliği ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Tenoksikam direkt olarak COX enzim aktivitesini inhibe eder ve araşidonik asit metabolitlerinin oluşumunu engeller (4). Ichihara ve ark. tenoksikamın nötrofillerde peroksidaz aktivitesinin azalmasında kofaktör rolü oynayarak antiinflatuar etki gösterdiği sonucuna varmışlardır (7). Paino ve ark. ratlarda nonsteroid antiinflatuar ilaçlardan (NSAİİ) diklofenak, indometazin, naproksen, piroksikam ve tenoksikam ile aktive olmuş nötrofiller üzerinde yapmış oldukları çalışmada, tenoksikamın lökositlerde peroksidasyon aktivitesini ve hipoklorik asit üretimini %90, serbest oksijen radikalleri

(SOR) oluşumunu %45 oranında azalttığını göstermişlerdir (8). Ezberci ve ark. ratlarda peritonit modelinde yapmış oldukları çalışmada, tenoksikamın katalaz (KAT) seviyesini artırıp, malondialdehit (MDA) ve SOR seviyesini azaltarak abdominal adezyon oluşumunu önlediğini göstermişlerdir (9). Yine Çelebioğlu ve ark. fareler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, intraperitoneal (ip) uygulanan tenoksikamın prostaglandin E2 (PGE2) seviyesini düşürdüğü ve abdominal adezyon oluşumunu azalttığını göstermişlerdir (10). Tüm bu çalışmalar tenoksikamın antiinflatuar etkinliğini hem lokal olarak dokuda hem de nötrofiller üzerinden gösterdiğini kanıtlar niteliktedir.

Bu çalışmada rat alt ekstremitte iskemi-reperfüzyon modelinde bir COX-2 inhibitörü olan tenoksikamın antioksidan etkinliğini araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışma; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu (05.10.2007-95) izni alındıktan sonra, 28 adet erişkin erkek Wistar rat (200-250 gr) kullanılarak DEÜ Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi (11). Çalışmada 20 mg tenoksikam içeren Oksamen-L (Liyofilize enjektabl toz, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi, Türkiye) kullanıldı. Bir flakon Oksamen, 57.33 mg mannitol, 3.28 mg sodyum hidroksit, 3 mg trametamol, 2 mg sodyum metabisülfid, 0,2 mg sodyum EDTA içinde etken madde olarak 20 mg tenoksikam içermektedir. Ratların bakımı "Laboratuvar hayvanları kullanım ve bakım kılavuzu" na uygun olarak yapıldı. Çalışma sonunda hayvanlar, letal dozda sodyum tiyopental (Pentotal sodium, Abbot, İtaly) verilerek sakrifiye edildi.

## Deney Grupları ve Protokol

Dört grup oluşturuldu. Ratlarda anestezi, ip 50 mg/kg ketamin (Phizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg'dan xylazine hydrochloride (Alfazyne, %2, Ege Vet) ile sağlandı, gerektiğinde dozlar tekrarlandı.

**Grup 1 (Kontrol, n=7):** Çalışma boyunca anestezi uygulaması dışında hiç bir işlem gerçekleştirilmedi. **Grup 2 (Sham, İ/R, n=7):** Anestezi sonrası sol alt ekstremitteye turnike ile 3 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı, ilaç verilmedi. **Grup 3 (İ/R, 2,5 mg/kg Tenoksikam, n=7):** Anestezi sonrası sol alt ekstremitteye turnike ile 3 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açıldıktan hemen sonra 2,5 mg/kg tenoksikam, ip olarak verildi. **Grup 4 (İ/R, 10 mg/kg Tenoksikam, n=7):** Anestezi sonrası sol alt ekstremitteye turnike ile 3 saat iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı, turnike açıldıktan hemen sonra 10 mg/kg tenoksikam, ip olarak verildi. Bütün gruplardan reperfüzyon süresinin bitimine uyan saatte doku örnekleri alındı. Örnek olarak aldığımız Galvao ve ark.'nın çalışmasında bizim çalışmamızda olduğu gibi tenoksikam

dozları 2,5 ve 10 mg/kg dozlarında ip olarak uygulanmıştır (4). Tenoksikaminin rutin kullanımında günlük uygulama dozu 0,3-0,5 mg/kg aralığındadır. Ratlarda, ip uygulama etkin, güvenilir ve 5-10 ml'ye kadar enjeksiyon olanağı sağladığı için sıklıkla tercih edilir (4,8,10).

Alt ekstremitte iskemisi için deneklerin sol arka bacak kasık bölgesinden elastik bandaj (1 cm eninde ve 30 cm boyunda) ile çepeçevre basınç uygulandı. Kan akımının kesilmesi Tc 99-m perteknetat sintigrafisi ile doğrulandı (12).

## Kas Dokusunun Histopatolojik Değerlendirilmesi

Kas dokusundaki değişimler nekroz, sarkoplazmik retikulum (SR) dilatasyonu, mitokondri boyut farkı, mitokondriyal kristalizis (kristallerin azalması), nötrofil hücre yoğunluğu, kromatin kaybı düzeyi ve miyofibriler dezorganizasyon gibi değişimler yönünden, bir histolog tarafından elektron mikroskopu (EM) altında kör olarak değerlendirildi. Değerlendirmede “*doku hasar skoru*” kullanıldı. Skorlama 0; hasar yok ya da minimal hasar, 1; hafif hasar, 2; orta hasar, 3; şiddetli hasar şeklinde derecelendirildi (4) (Tablo I).

## İstatistiksel Analiz

Denyede elde edilen veriler Windows için SPSS 11,0 programı kullanılarak analiz edildi. Çoklu analizler için Kruskal Wallis Testi, ikili karşılaştırmalar için Mann Whitney U Testi kullanıldı ve  $p < 0,05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

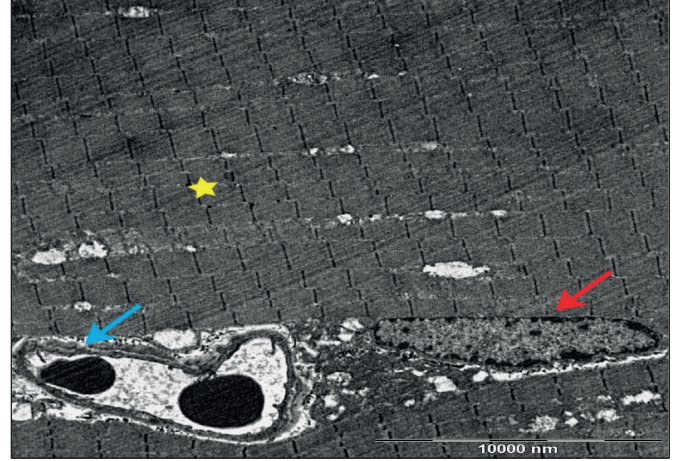
## BULGULAR

Bu çalışma 7'şer rattan oluşan 4 gruptaki toplam 28 ratta gerçekleştirildi. Deneklerin tümü, protokolü tamamladı. Histopatolojik değerlendirmeler her gruptan seçilen 5'er denek, toplam 20 denek üzerinde randomize olarak yapıldı. EM ile gerçekleştirilen histopatolojik değerlendirmeler sonucunda elde edilen skorlar istatistiksel olarak kıyaslandı. EM görüntüleri, Şekil 1-7 de paylaşılmıştır.

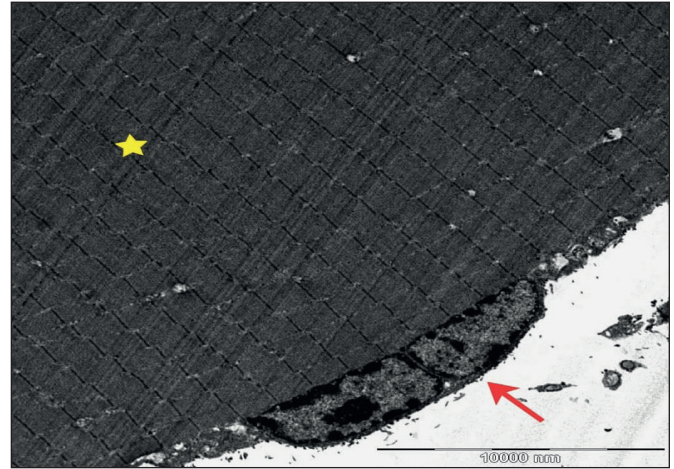
Mitokondriyal kristalizis skorları kıyaslandığında, sham grubunda oluşan ve İ/R hasarının önemli bir belirtici olarak ortaya çıkan mitokondriyal kristalizisin Grup 1 ( $p=0,014$ ) ve Grup 4'e ( $p=0,014$ ) kıyasla anlamlı derecede

fazla olduğu saptandı. Grup 3'de sayısal farklılık olmasına karşın Grup 2 ile karşılaştırıldığında, farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlemlendi ( $p=0,072$ ).

İ/R hasarının önemli göstergelerinden biri olan SR dilatasyonu yönünden karşılaştırılan gruplarda SR dilatasyonunun Grup 2'de gerek Grup 1 ( $p=0,005$ ), gerekse Grup 3'e ( $p=0,004$ ) kıyasla anlamlı derecede fazla olduğu belirlendi.



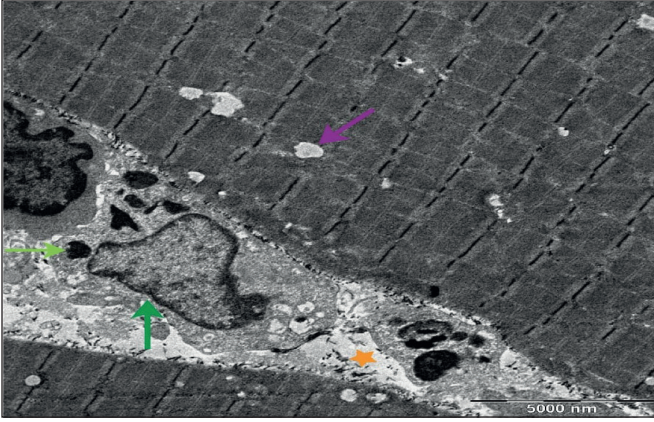
**Şekil 1:** Grup 1 (kontrol) Çekirdek kromatini (kırmızı ok), damar yapısı (mavi ok) ve miyofibriler yapı (sarı yıldız) normal görünümdeydi.



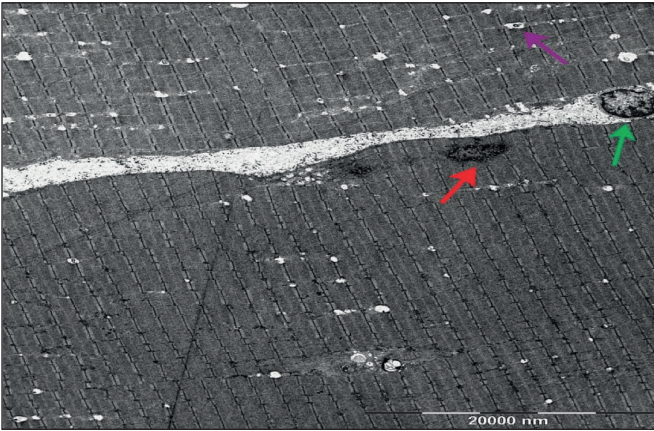
**Şekil 2:** Grup 1 (kontrol) Çekirdek kromatini (kırmızı ok) ve miyofibriler yapı (sarı yıldız) normal görünümdeydi.

**Tablo I:** Histopatolojik Skorlama Sistemi.

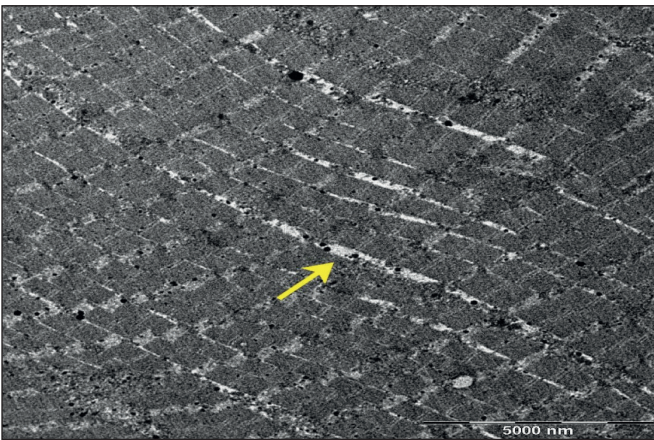
Derece	Tanımlamalar
0	Normal histolojik görünüm
1	Vasküler konjesyon
2	Vasküler konjesyon ve istertisyel ödem
3	Kas yapısal değişiklikler ve inflamatuvar hücre kümelenmesi
4	Yaygın kas yapısal hasarı, düzensizlik ve inflamatuvar hücre kümelenmesi



**Şekil 3:** Grup 2 (İ/R, Sham) Yaygın sarkoplazmik dilatasyon (mor ok), nötrofil infiltrasyonu (yeşil ok), lizozom aktivitesi (açık yeşil ok) ve yaygın ödem oluşumu (turuncu yıldız) görüldü.

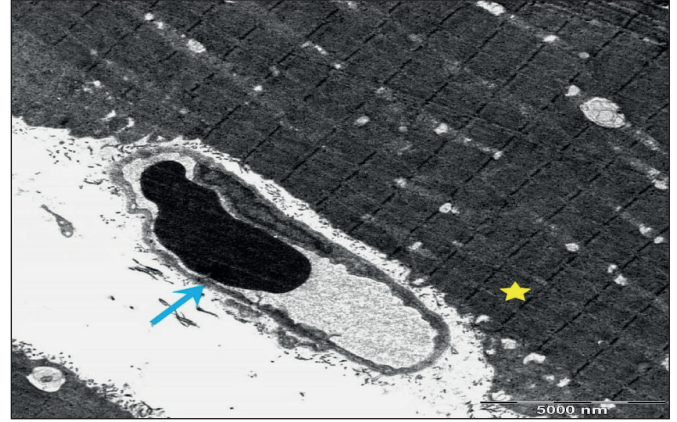


**Şekil 4:** Grup 2 (İ/R, Sham) Nekroza uğramış bir çekirdek (kırmızı ok), yaygın sarkoplazmik dilatasyon (mor ok) ve nötrofil infiltrasyonu (yeşil ok) görüldü.



**Şekil 5:** Grup 3 (İ/R, 2,5 mg/kg Tenoksikam) Miyofibriler düzensizlik (sarı ok) görüldü.

Kristalizis skorlarındakine benzer şekilde, SR dilatasyonunun Grup 3'de Grup 2'ye kıyasla sayısal farklılık sergilemesine karşın, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,054$ ). SR dilatasyonundaki azalma yönünden Grup 3 ve Grup 4 arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı



**Şekil 6:** Grup 4 (İ/R, 10 mg/kg Tenoksikam) Normal myofibriler yapı (sarı yıldız) ve normal görünümde vasküler yapı (mavi ok) görülmüyor.



**Şekil 7:** Grup 4 (İ/R, 10 mg/kg Tenoksikam).

olduğu belirlendi ( $p=0,004$ ). Tüm gruplar karşılaştırıldığında mitokondriyal boyut farkı ve kromatin kaybı yönünden gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

İ/R hasarının önemli bir belirti olan miyofibriler dezorganizasyonun, Grup 2'de Grup 1'e ( $p=0,005$ ), Grup 3'e ( $p=0,007$ ) ve Grup 4'e ( $p=0,006$ ) kıyasla anlamlı derecede fazla olduğu saptandı. 2,5 ve 10 mg'lık gruplardaki fark istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tüm gruplar karşılaştırıldığında mitokondriyal boyut farkı ve kromatin kaybı yönünden gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p>0,05$ ).

EM' de bu verilere ek olarak ödem, nötrofil birikimi, nekroz ve lizozom oluşumu açısından da değerlendirmeler elde edildi. Bu veriler skorlama sistemi ile karşılaştırılmaya dahil edilmedi. Fakat Grup 2'de yoğun olarak gözlenen nötrofil birikimi, nekroz, ödem ve lizozom oluşumu Grup 3 ve Grup 4'de doza bağlı olarak azaldı ve 10 mg'lık grupta belirgin iyileşme gözlemlendi.

## TARTIŞMA

İskemik hasarlanma ile iskeminin süresi arasında önemli bir bağlantı vardır (13,14). Petrasek ve ark. alt ekstremite İ/R çalışmasında ölçüm yaparak iskeminin 4. saatinde kas dokusundaki nekroz oranını %21, 5. saatte %61 ve 5. saatte sonra ise %92 olarak tespit etmişlerdir (15). Nekroz, hücrede geri dönüşümsüz hasarın göstergesidir (16). Skjeldal ve ark. iskeminin 4. saatinde nekrozu %46 saptarken, 4,5 saat sonra %70 olarak gözlemiştir (17). Çalışmamızda sham grubunda çekirdekte belirgin nekroz alanları gözlenmiştir. Sham Grubu'nda belirgin olarak gözlenen nekroz, 2,5 ve 10 mg'lık gruplarda doza bağlı olarak azalmıştır.

Blaisdell, 3 saatlik alt ekstremite iskemisi dönemi ardından kas dokusunda geri dönüşümsüz histolojik hasarlanmanın başladığını ve yaklaşık 6. saatte tamamlandığını göstermiştir (18). Sirsjö ve ark. 3 saatlik iskemisi dönemi ardından laser doppler ile kas kan akımının belirgin olarak azaldığını saptamışlardır (19). Duru ve ark. ratlarda 3 saatlik iskemisi süresi sonunda kas dokusunda yaygın nötrofil birikimi oluştuğunu belirlemişlerdir (12). Çalışmamızda Sham Grubu'nda ortaya çıkan veriler, 3 saatlik iskemisi süresi uygulanan diğer alt ekstremite İ/R çalışmalarındaki EM verilerine benzer bulunmuştur.

Çalışmamızda daha önceki çalışmaların sonuçlarına bakılarak 3 saatlik iskemisi süresinin ardından 24 saatlik reperfüzyon süresi öngörülmüştür (3,4,20). Reperfüzyon süresinin sonunda, Sham Grubu'nda yaygın SR dilatasyonu, miyofibriler dezorganizasyon ve mitokondriyal kristalizis gözlenmiştir. Sham grubundan elde edilen bu histopatolojik bulgular aynı süreyi kullanan diğer İ/R çalışmalarında elde edilenlerle benzer bulunmuştur (12,18).

Ödem oluşumu İ/R'a bağlı inflamasyonda ilk ortaya çıkan belirtilerden biridir. Duarte ve ark. farelerde alt ekstremitede 60, 90 ve 120 dakikalık iskemiye izleyen 60 dakikalık reperfüzyon sonrası ıslak kas dokusu ağırlığında (ödem) %90, doku protein içeriğinde ise %40 artış saptamışlardır (21). Appell ve ark. hastalarda turnike kullanımı sonrası vastus lateralis kasından biyopsi örnekleri olarak patolojik değişimleri EM ile incelemişler, 90 dakikalık iskemisi süresi sonunda lifler arası ödem, lizozom birikimi, hücreler arası ödem, nekroz, endotelyumda balonlaşma, bazal membranda kalınlaşma saptamışlardır (22). Çalışmamızda sham grubunda ekstrasvasküler ve myofibriller arasında yaygın ödem oluşumu gözlenmiştir. 2,5 ve 10 mg'lık gruplarda ödem doza bağlı olarak azalmıştır. Çalışmalarda tenoksikamın dolaylı yoldan nötrofil aktivitesini, SOR, kemokinler, PAF ve lizozomal enzim oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (4,5,7-9). Ödem oluşumunun azalması bu dolaylı etkiyi destekler niteliktedir.

Yapılan literatür araştırmalarında Galvao ve ark.'nın çalışması dışında tenoksikamın İ/R modelinde antioksidan

etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır (4). Galvao ve ark. ratlarda oluşturulan serebral iskemisi modelinde tenoksikamın antioksidan etkinliğini incelemişlerdir. İskemisi grubunda histolojik olarak gözlenen yoğun vakuolizasyon (SR dilatasyonu), nötrofil birikimi ve piknozis (çekirdek hasarı) 10 mg tenoksikam grubunda belirgin azalma göstermiştir. Yine aynı çalışmada, Sham Grubu'nda striatal ve hippokampal lezyonlar gözlemiştir. Tenoksikam verilen gruplarda doza bağlı olarak bu lezyonlar azalmış, özellikle 10 mg/kg tenoksikam verilen grupta iskemiye bağlı histolojik doku değişiklikleri belirgin azalma göstermiştir. Bizim çalışmamızda da benzer bir sonuç elde edilmiştir. İskemisi sonrası sham grubunda yoğun olarak gözlenen nötrofil birikimi, piknoza gidişi işaret eden kromatin kümeleşmesi, SR dilatasyonu, mitokondriyal kristalizis, miyofibriler dezorganizasyon bulguları doza bağlı olarak azaldı. Bu üç parametrede 10 mg'lık grupta ortaya çıkan sonuçlar ile kontrol grubu arasındaki sonuçlar anlamlı derecede benzerlik göstermiştir. EM'de gözlenen SR dilatasyonu, mitokondriyal kristalizis, miyofibriler dezorganizasyon bulguları İ/R'da geri dönüşümsüz hücre hasarına gidişi gösterir (16).

Edna ve ark. 4 saat iskemisi ve 24 saat reperfüzyon dönemi uyguladıkları çalışmada kas dokusunda yaygın nötrofil infiltrasyonu, ödem ve nekrotik fibriller saptamışlar. Ayrıca 4 saat iskemisi/1 saat reperfüzyon grubunda dilate SR, mitokondriyal düzensizlik, miyofibriler yapıda bozulma gözlenmişler. Bizim çalışmamızda Sham Grubu'yla karşılaştırıldığında 2,5 ve 10 mg'lık gruplarda nötrofil infiltrasyonu ve mitokondriyal kristalizis oluşumu gözlenmedi ve miyofibriler bozulma doza bağlı azaldı (20).

Lizozom oluşumu nekrotik hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar ve nötrofil aktivitesinin bir belirtisidir. Appell ve ark.'nın yapmış oldukları çalışmada 2 saat iskemisi, 1 saat reperfüzyon süresi ardından gözlenen lizozom oluşumu ve perivasküler ödem çalışmamızda yalnızca sham grubunda görülmüştür (23). 2,5 ve 10 mg'lık gruplarda lizozom oluşumu ve perivasküler ödem gözlenmemiştir. Bu sonuç, tenoksikam ile nötrofil aktivitesinin baskılandığı fikrini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile tek taraflı alt ekstremite İ/R'sinde kullanılan tenoksikamın doza bağlı olarak mitokondriyal kristalizis, SR dilatasyonu ve miyofibriler dezorganizasyondaki hasar göstergelerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede hasarlanmayı azalttığı kanısına varılmıştır. Bu sonuç İR patogenezinde araşidonik asit yolağının çok önemli olduğu savını destekler niteliktedir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Tenoksikamın, major ekstremite ameliyatlarında, travmaya bağlı hasarlanmada ve akut ekstremite embolizasyonu gibi klinik durumlarda uygulanabilir bir ajan olabileceği düşünülmektedir. Fakat ilacın yüksek dozları ile çalışıldığı ve

bazı parametrelerin teknik sorunlar nedeniyle değerlendirilemediği düşünüldüğünde, daha ileri deneysel ve klinik çalışmalara gereksinim olduğu sonucuna varılmıştır.

### Çıkar çatışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

### Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

## KAYNAKLAR

- Alizan A, Khalil C, Farah A, John C. Reperfusion injury. *Plast. Reconstr Surg* 2006; 117: 1024-33.
- Korthuis R J, Grisham M B. Leukocyte depletion attenuates vascular injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 1988; 254:823-7.
- Dupouy V, Fere P, Uro-coste E. Time course of cox-1 and cox-2 expression during ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2006; 100(1):233-9.
- Galvao R, Diogenes J, Maia G. Tenoxicam exerts a neuroprotective action after cerebral ischemia in rats. *Neurochem Res* 2005; 30:39-46.
- Patel N, Cuzzocrea S, Collino M. The role of cyclooxygenase-2 in the rodent kidney following ischaemia/reperfusion injury in vivo. *Eur J Pharmacol* 2007; 562:148-54.
- Nilsen OG. Clinical pharmacokinetics of tenoxicam. *Clin Pharmacokinet* 1994; 26:16-43.
- Ichihara S, Tomisawa H, Fukazawa H, Tateishi M, Joly R, Heintz R. Oxidation of tenoxicam by leukocyte peroxidases and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produces novel products. *Drug Metab Dispos* 1989; 17:463-8.
- Paino M, Ximenes V, Fonseca L. Effect of therapeutic plasma concentrations of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the production of reactive oxygen species by activated rat neutrophils. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 543-51.
- Ezberci F, Bulbuloglu E, Ciragil P. Intraperitoneal tenoxicam to prevent abdominal adhesion formation in a rat peritonitis model. *Surg Today* 2006; 36:361-6.
- Celebioglu B, Eslamboul N, Olcay E. The effect of tenoxicam on intraperitoneal adhesions and prostaglandin E<sub>2</sub> levels in mice. *Anesth Analg* 1999; 88:939-42.
- Mol Y. Rat alt ekstermite iskemi reperfüzyon modelinde tenoksikamın antioksidan etkinliğinin araştırılması (uzmanlık tezi). Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 2008.
- Duru S, Koca U, Öztekin S, Olguner Ç, Elar Z. Antithrombin III pretreatment reduces neutrophil recruitment into the lung and skeletal muscle tissues in the rat model of bilateral lower limb and reperfusion: A Pilot Study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49:1142-8.
- Ozcan O, Erdal H, Yonden Z. İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış. *Mustafa Kemal Üniv Tıp Derg* 2015; 6(23):27-33.
- Suleyman H, Gül V, Hirik E. İskemi-reperfüzyon hasarı. *Erzincan Medical Journal* 2018; 1(2):51-4.
- Petrasek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg* 1994; 19:623-31.
- Kumar V, Cotran R, Rabbins S. *Temel Patoloji*, 6. baskı. Çeviri: Kemal Kutlu, İstanbul: Nobel Yayınları, 2000: 4-24.
- Skjeldal S, Torvik A, Grøgaard B, Nordsletten L, Lyberg T. Histological studies on postischemic rat skeletal muscles. With emphasis on the time of leukocyte invasion. *Eur Surg Res* 1993; 25:348-57.
- Blaisdell F W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: A review. *Cardiovasc Surg* 2002; 10:620-30.
- Sirsjö A, Gidlöf A, Nilsson G, Povlsen B. Skeletal muscle blood flow after prolonged tourniquet ischaemia and reperfusion with and without intervening reoxygenation: An experimental study in rats using laser Doppler perfusion imaging. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1999; 33:281-5.
- Edna M, Maeli D, Vitalino D. Ischaemia and reperfusion effects on skeletal muscle tissue: Morphological and histochemical studies. *Int J Exp Path* 2007; 88:147-54.
- Duarte JA, Glöser S, Remião F, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM, Appell HJ. Administration of tourniquet. I. Are edema and oxidative stress related to each other and to the duration of ischemia in reperfused skeletal muscle? *Arch Orthop Trauma Surg* 1997; 116:97-100.
- Appell H J, Glöser S, Duarte JA, Zellner A, Soares JM. Skeletal muscle damage during tourniquet-induced ischaemia. The initial step towards atrophy after orthopaedic surgery? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1993; 67:342-7.
- Appell HJ, Glöser S, Soares J, Duarte JA. Structural alterations of skeletal muscle induced by ischemia and reperfusion. *Basic Appl Myol* 1999; 9:263-8.