

T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN PENÇE ÖDEMİNDE DİKLOFENAK ETKİNLİĞİNİN  
YARDIMCI UYGULAMALAR İLE DEĞİŞİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NİLÜFER ERCAN**

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. M. ORHAN ULUDAĞ

YARDIMCI DANIŞMAN  
Prof.Dr. EMİNE DEMİREL YILMAZ

ANKARA  
ARALIK 2012



T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇAN PENÇE ÖDEMİNDE DİKLOFENAK ETKİNLİĞİNİN  
YARDIMCI UYGULAMALAR İLE DEĞİŞİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NİLÜFER ERCAN**

TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. M. ORHAN ULUDAĞ

YARDIMCI DANIŞMAN  
Prof. Dr. EMİNE DEMİREL YILMAZ

ANKARA  
ARALIK 2012

**T.C.**  
**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmakoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı**  
**çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından**  
**Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Tez Savunma Tarihi : 25/12/2012**

  
**İmza**

**Ünvanı Adı ve Soyadı**  
**Gazi Üniversitesi**  
**Jüri Başkanı**  
**PROF.DR.NURETTİN ABACIOĞLU**

  
**İmza**

**Ünvanı Adı ve Soyadı**  
**Gazi Üniversitesi**  
**DOÇ.DR.M.ORHAN ULUDAĞ**

  
**İmza**

**Ünvanı Adı ve Soyadı**  
**Ankara Üniversitesi**  
**PROF.DR.EMİNE DEMİREL YILMAZ**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------|------|
| Kabul ve Onay                                                  | I    |
| İçindekiler                                                    | II   |
| Şekiller, Resimler, Grafikler                                  | V    |
| Tablolar                                                       | VII  |
| Semboller ve Kısaltmalar                                       | VIII |
| <br>                                                           |      |
| 1. GİRİŞ                                                       | 1    |
| <br>                                                           |      |
| 2. GENEL BİLGİLER                                              | 4    |
| 2.1. İnflamasyon                                               | 4    |
| 2.1.1. İnflamasyon Mekanizması                                 | 5    |
| 2.1.2. İnflamasyonda Rol Alan Mediyatörler                     | 9    |
| 2.1.3. Araşidonik Asit Metabolizması ve İnflamasyondaki Yeri   | 11   |
| 2.2. Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar                    | 15   |
| 2.2.1. NSAİİ'lerin Tarihçesi                                   | 15   |
| 2.2.2. NSAİİ'lerin Sınıflandırması ve Etki mekanizması         | 17   |
| 2.2.3. NSAİİ Kullanım Alanları                                 | 19   |
| 2.2.4. Diklofenak'ın Etki Mekanizması                          | 20   |
| 2.2.5. Diklofenak Kullanım Alanları                            | 21   |
| 2.3. Biber Bitkisi ve Tıpta Kullanımı                          | 22   |
| 2.3.1. Tarihçe                                                 | 22   |
| 2.3.2. Kapsaisinoidlerin Kimyasal Yapısı ve Temel Özellikleri: | 23   |
| 2.4. Kapsaisinin Fizyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması       | 27   |

|                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.4.1. Vanilloid Reseptörü (TRPV1)                               | 30        |
| 2.4.2. Nöronal Desensitizasyon                                   | 33        |
| 2.4.3. Kapsaisin Kullanım Alanları                               | 34        |
| <b>2.5. Deney Hayvanlarında İnflamasyon Oluşturma Yöntemleri</b> | <b>34</b> |
| 2.5.1. Akut İnflamasyon Testleri                                 | 35        |
| 2.5.2. Kronik İnflamasyon Testleri                               | 37        |
| 2.5.3. Antiinflatuvar Etkinin Ölçümü İçin Kullanılan Cihazlar    | 37        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>                                     | <b>39</b> |
| <b>3.1. Gereç</b>                                                | <b>39</b> |
| 3.1.1. Deney Hayvanları                                          | 39        |
| 3.1.2. Kimyasal Maddeler                                         | 40        |
| 3.1.2.1. Antiinflatuvar Aktivite Tayininde Kullanılmak           |           |
| Üzere Alınan Maddeler                                            | 40        |
| 3.1.3. Araç ve Gereçler                                          | 40        |
| <b>3.2. Yöntem</b>                                               | <b>41</b> |
| 3.2.1. Deney Grupları                                            | 41        |
| 3.2.2. Pençe Ödemi Yöntemi                                       | 41        |
| 3.2.3. İnflatuvar Yanıtın Değerlendirilmesi                      | 43        |
| <b>3.3. İstatistiksel Analiz</b>                                 | <b>46</b> |
| <b>4. BULGULAR</b>                                               | <b>47</b> |
| <b>5. TARTIŞMA</b>                                               | <b>56</b> |
| <b>6. SONUÇ</b>                                                  | <b>60</b> |

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| <b>7. ÖZET</b>          | <b>61</b> |
| <b>8. SUMMARY</b>       | <b>63</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR</b>     | <b>65</b> |
| <b>10. Ekler</b>        |           |
| 10.1. Etik Kurul Raporu |           |
| 10.2. Teşekkür          |           |
| <b>11. ÖZGEÇMİŞ</b>     |           |

## ŞEKİLLER, RESİMLER, GRAFİKLER

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. İnflamasyon mekanizması                                                                                                    | 6  |
| Şekil 2. Ödem mekanizması                                                                                                           | 8  |
| Şekil 3. Araşidonik asit yolağı                                                                                                     | 14 |
| Şekil 4. Acı biber ve Kapsaisin molekülü                                                                                            | 24 |
| Şekil 5. TRPV1 reseptörü ve aktivatörleri                                                                                           | 32 |
| Resim 1. Pletismometre ile pençe ödemi ölçümü                                                                                       | 38 |
| Resim 2. Sıçan pençeleri                                                                                                            | 44 |
| Resim 3. Pençelerin otoklavda kurutulması                                                                                           | 45 |
| Şekil 6. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin sıçanlarda karagenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değişimi.     | 48 |
| Şekil 7. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin enjeksiyondan <u>180 dakika</u> sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri. | 50 |
| Şekil 8. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin enjeksiyondan <u>270 dakika</u> sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri. | 51 |
| Şekil 9. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin enjeksiyondan <u>360 dakika</u> sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri. | 52 |



**Şekil 10. Diklofenak, yakı ve kapsaisin karagenin ile indüklenen sıçan pençe ödemi ağırlığı üzerine etkileri.** 53

**Şekil 11. İnflamasyonlu sağ pençenin doku Evans mavisi içeriği üzerine diklofenak, yakı ve kapsaisin etkileri.** 55



## TABLÖLAR

|                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 1. İnflamasyona aracılık eden maddeler ve inflamatuvar reaksiyondaki rolleri</b> | <b>10</b> |
| <b>Tablo 2. Doğal ve sentetik kapsaisinoidler</b>                                         | <b>25</b> |



## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

|                         |                                       |
|-------------------------|---------------------------------------|
| <b>AA</b>               | : Araşidonik asit                     |
| <b>CG</b>               | : Karagenin                           |
| <b>CGRP</b>             | : Kalsitonin geni ile ilgili peptid   |
| <b>COX</b>              | : Siklooksijenaz                      |
| <b>COX-1</b>            | : Siklooksijenaz-1                    |
| <b>COX-2</b>            | : Siklooksijenaz-2                    |
| <b>GI</b>               | : Gastrointestinal                    |
| <b>HETE</b>             | : Hidroeikozatetraenoikasit           |
| <b>HPETE</b>            | : Hidroperoksieikozatetraenoikasit    |
| <b>IL-1</b>             | : İnterlökin-1                        |
| <b>LOX</b>              | : Lipoksijenaz yolu                   |
| <b>LT</b>               | : Lökotrien                           |
| <b>LTA<sub>4</sub></b>  | : Lökotrien A <sub>4</sub>            |
| <b>LTB<sub>4</sub></b>  | : Lökotrien B <sub>4</sub>            |
| <b>LTC<sub>4</sub></b>  | : Lökotrien C <sub>4</sub>            |
| <b>LTD<sub>4</sub></b>  | : Lökotrien D <sub>4</sub>            |
| <b>LTE<sub>4</sub></b>  | : Lökotrien E <sub>4</sub>            |
| <b>LXA<sub>4</sub></b>  | : Lipoksin A <sub>4</sub>             |
| <b>LXB<sub>4</sub></b>  | : Lipoksin B <sub>4</sub>             |
| <b>NSAİİ</b>            | : Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç |
| <b>OA</b>               | : Osteoartrit                         |
| <b>PG</b>               | : Prostaglandin                       |
| <b>PGD<sub>2</sub></b>  | : Prostaglandin D <sub>2</sub>        |
| <b>PGE<sub>2</sub></b>  | : Prostaglandin E <sub>2</sub>        |
| <b>PGF<sub>2α</sub></b> | : Prostaglandin F <sub>2α</sub>       |
| <b>PGG<sub>2</sub></b>  | : Prostaglandin G <sub>2</sub>        |
| <b>PGH<sub>2</sub></b>  | : Prostaglandin H <sub>2</sub>        |

|                        |                                                     |
|------------------------|-----------------------------------------------------|
| <b>PGHS</b>            | : Prostaglandin H sentaz                            |
| <b>PGI<sub>2</sub></b> | : Prostatiklin                                      |
| <b>PMA</b>             | : Forbol miristat Asetat                            |
| <b>RA</b>              | : Romatoid artrit                                   |
| <b>RTX</b>             | : Resiniferatoksin                                  |
| <b>SP</b>              | : P maddesi (substance P)                           |
| <b>TNF</b>             | : T m r nekroz fakt r                               |
| <b>TPA</b>             | : Tetradekanoilforbol Asetat                        |
| <b>TRPV1</b>           | : Geici resept r potansiyeli vanilloid 1 resept r  |
| <b>TRPV2</b>           | : Geici resept r potansiyeli vanilloid 2 resept r  |
| <b>TRPV3</b>           | : Geici resept r potansiyeli vanilloid 3 resept r  |
| <b>TRPV4</b>           | : Geici resept r potansiyeli vanilloid 4 reseptörü |
| <b>TRPV5</b>           | : Geçici reseptör potansiyeli vanilloid 5 reseptörü |
| <b>TRPV6</b>           | : Geçici reseptör potansiyeli vanilloid 6 reseptörü |
| <b>TXA<sub>2</sub></b> | : Tromboksan A <sub>2</sub>                         |
| <b>VR</b>              | : Vaniloid reseptörler                              |

## 1. GİRİŞ

Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİ'ler) siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe ederek, ağrı ve inflamasyonun fizyolojik ve patolojik mediyatörleri olan çok sayıda eikozanoidin üretimini engellerler. NSAİ'ler en sık olarak akut ve kronik inflamasyonları tedavi etmek için kullanılırlar<sup>1</sup>. Sistemik uygulamada NSAİ'lerin terapötik etkinlikleri, kan dolaşımı düşük olan dokularda yetersiz kalabilir. Diğer taraftan, NSAİ'lerin kronik ve yüksek dozda uygulanması ciddi yan etkilere de sebep olabilir<sup>2</sup>. Bu yüzden, lokal etkinliği arttıracak girişimlere bazen ihtiyaç duyulmaktadır. Topikal NSAİ preparatları onaylanmıştır ancak bunlar klinik etkinlikleri açısından sorgulanmaktadır. İlaç yanıtı artmasındaki bireysel farklılıklar, ciltteki yan etkiler, sistemik ve doku NSAİ konsantrasyonları ilişkisi gibi sorunlar topikal tedavide henüz çözümlenmemiştir<sup>3</sup>.

Kapsaisin, acı biberlerin acılık veren en önemli içeriğidir. Kapsikum oleoresin, biberden elde edilen ve her biri kapsaisinoidler olarak adlandırılan kapsaisin, dihidrokapsaisin, nordihidrokapsaisin, homokapsaisin, homodihidrokapsaisin gibi maddeleri içeren alkolik ekstraktır<sup>4,5,6</sup>. Kapsaisinoidlerin analjezik, antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan ve antiobezite gibi çeşitli farmakolojik etkileri vardır<sup>5</sup>.

Kapsaisinoidler, duyuşal nöronların incelenmesi için uzun zamandan beri farmakolojik bir araç olarak kullanılmaktadır. Kapsaisin biberde bulunan majör kapsaisinoid türüdür. Kapsaisin uygulaması, esas olarak iki ayrı tipi bulunan kapsaisine duyarlı duyuşal nöronların

uyarılmasına sebep olur: bu tiplerden birincisi miyelinsiz ince lifli küçük nöronlar (C-lifi nöronları) ve ikincisi de ince miyelinli kalın lifli büyük nöronlardır (Aδ nöronları). Bu nöronlarda bulunan “geçici reseptör potansiyeli vanilloid 1” (TRPV1) iyon kanalı üzerinde bir agonist olarak etki gösterir. Yanma tarzında ağrı sinyali dorsal kök ganglionlarına iletilir<sup>7</sup>. Topikal kapsaisin uygulaması, duyuşal nöronların noşiseptörleri üzerinde etki ederek vazodilatasyon ve ekşravazasyon ile karakterize nörojenik inflamasyon oluşturan çeşitli nöropeptidlerin salgılanmasına sebep olur. Bunlar arasında, inflamatuvar yolları aktive eden P maddesi (substans P; SP) ve kalsitonin geni ile ilgili peptid (CGRP) yer alır<sup>7</sup>. Tekrarlanan, uzun süreli veya yüksek doz kapsaisin uygulamasından sonra çeşitli noksiyöz uyarılara karşı nöronal desensitizasyonun gelişmesi kapsaisinin analjezik aktivitesinin en önemli göstergesidir<sup>8,9,10</sup>. Bu lokal uygulama hafif yada orta derecede analjezi sağlar, tedavide ayrıca diğerk analjezik bileşiklere, genellikle adjuvan ilaçlara ihtiyaç duyulur<sup>11</sup>.

Kapsaisinin topikal yolla uygulanması ciltte yanma, batma ve sıcaklık duyumsaması gibi hislere neden olabilmektedir<sup>12</sup>. Bu yüzden kapsaisin içeren yakılar ve merhemler osteoartrit, postherpetik nevralji, romatoid artrit, mastektomi sonrası (post-mastektomi) ağrı sendromu ve diyabetik nöropati gibi çeşitli kronik ağrılı hastalıklarda adjuvan bir analjezik olarak uygulanır<sup>11,12,13</sup>.

Kapsaisin ile indüklenen inflamasyon veya antiinflamasyon da bildirilmiştir<sup>14,15,16,17</sup>.

Sıçanlarda karagenin ile indüklenen pençe ödemi, ilaçların antiinflamatuvar etkilerini değerlendirmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır<sup>18,19,20</sup>. Diklofenak antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik özellikleriyle en sık reçete edilen NSAİ'lerden biridir<sup>21</sup>. Ancak lokal inflamasyonda NSAİ'lerin ve kapsaisinoidlerin etkileşimi henüz incelenmemiştir.

Bu çalışmada, yakı ve lokal kapsaisin uygulamalarını içeren topikal kapsaisinoidlerin, diklofenak antiinflamatuvar etkisi üzerindeki etkileri, sıçanlardaki karagenin ile indüklenen pençe ödemi modelinde incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnflamasyon

İnflamasyon hasarlı dokuyu onarmak için vücudun önemli bir savunma reaksiyonudur. Enfeksiyonlar, antikorlar veya fiziksel hasarlar gibi çeşitli zararlı uyarılar tarafından oluşturulabilir. Bir inflamatuvar yanıt oluşturma yeteneği, çevresel patojenlerle ve hasarla karşılaşma durumunda sağ kalabilmek için şarttır. Bazı koşullarda ve hastalıklarda inflamatuvar yanıt aşırı olabilir ve görünürde bir yararı olmaksızın ve hatta istenmeyen sonuçlarına karşın devam edebilir<sup>22</sup>.

İnflamasyon, hem hücre zedelenmesini ortaya çıkaran nedeni ortadan kaldırmak hem de hücresel zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücreler ve dokuları ortamdan uzaklaştırmak için gerekli bir koruyucu yanıttır<sup>23</sup>.

İnflamasyonun temel bulguları olan “rubor (kızarıklık), tumor (şişlik), calor (ısı artışı) ve dolor (ağrı)” eski Mısır dokümanlarında (M.Ö. 3000) tanımlanmıştır. Bu belirtiler genellikle kronik inflamasyona kıyasla akut inflamasyonda daha fazla belirgindir. Bu temel bulgulara 19. yüzyılda Rudolf Virchow tarafından beşinci klinik belirti olarak fonksiyon kaybı (functio laesa) eklenmiştir. 1793'te John Hunter inflamasyonun bir hastalık olmadığını ve uyarana karşı başlatılmış nonspesifik bir cevap olduğunu bildirmiştir. 1870'li yıllarda, Julius Cohnheim mikroskop ile inflamasyonda kapiller yatakta meydana gelen permeabilite artışını, lökosit göçünü ve



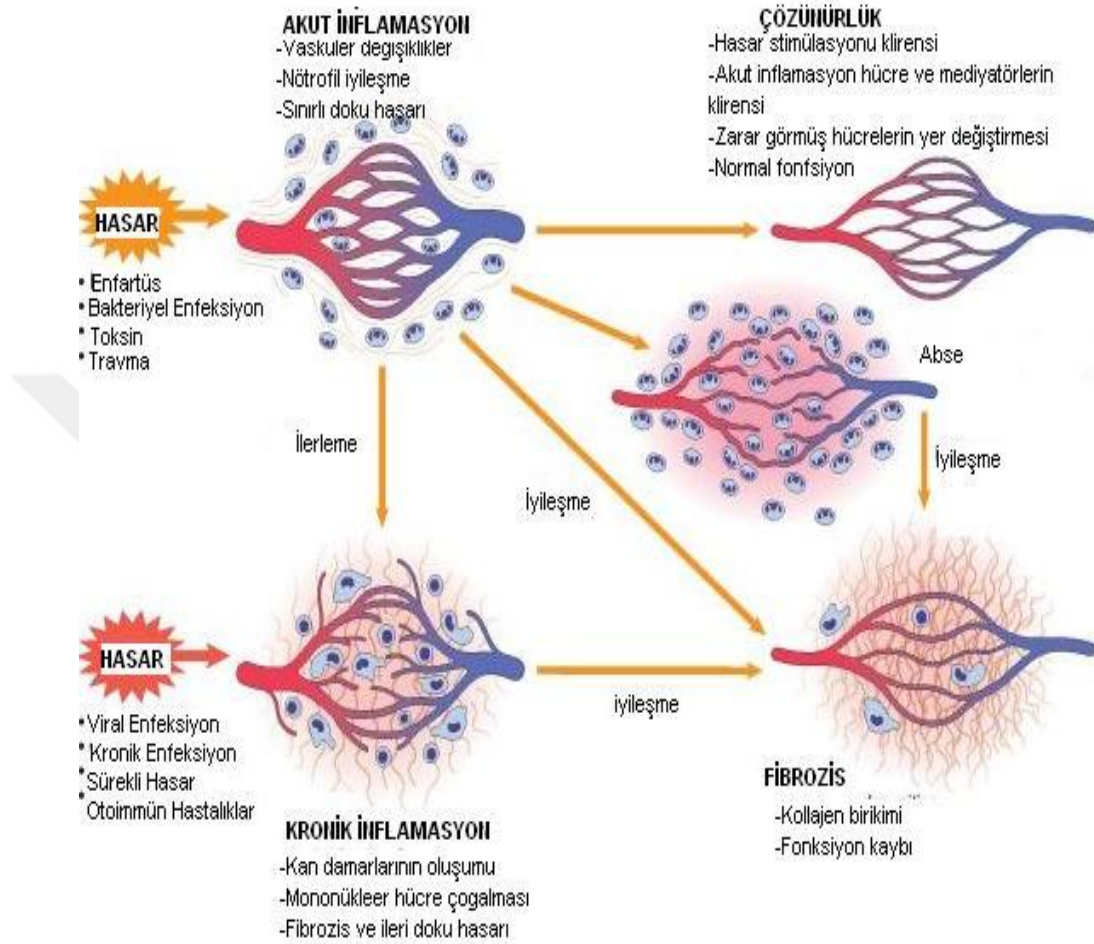
ekstravazasyonu tespit etmiştir. 1882 yılında Elie Metchnikoff inflamasyonun asıl amacının fagositik hücrelerin hasarlı alana transferi olduğunu bildirmiştir. Buna ek olarak Paul Ehrlich ise uyarılara karşı sadece hücresel elemanların (fagositler) değil aynı zamanda serum faktörlerinin (antikorlar) da önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Daha sonraki yıllarda Sir Thomas Lewis ise inflamasyonda kimyasal mediyatörlerin (histamin) etkisi ile vasküler yatakta değişiklikler olduğunu vurgulamıştır<sup>24,25</sup>.

### **2.1.1. İnflamasyon Mekanizması**

İnflamasyonun oluşmasında histamin, serotonin, bradikinin, nitrik oksit, lipooksijenaz ürünleri, sitokinler, serbest oksijen radikalleri, lizozomal enzimler ve prostaglandin (PG)'ler gibi inflamasyon mediyatörlerinin rolü bilinmektedir<sup>24</sup>. İnflamasyon akut ve kronik olmak üzere iki şekilde sınıflandırılır.

1. Akut inflamasyon kısa sürelidir, birkaç dakika ile birkaç gün arasında sürebilir. Sıvı ve plazma proteinlerinin eksüdasyonu (ödem) ve nötrofillerin göçü şeklinde seyreder.

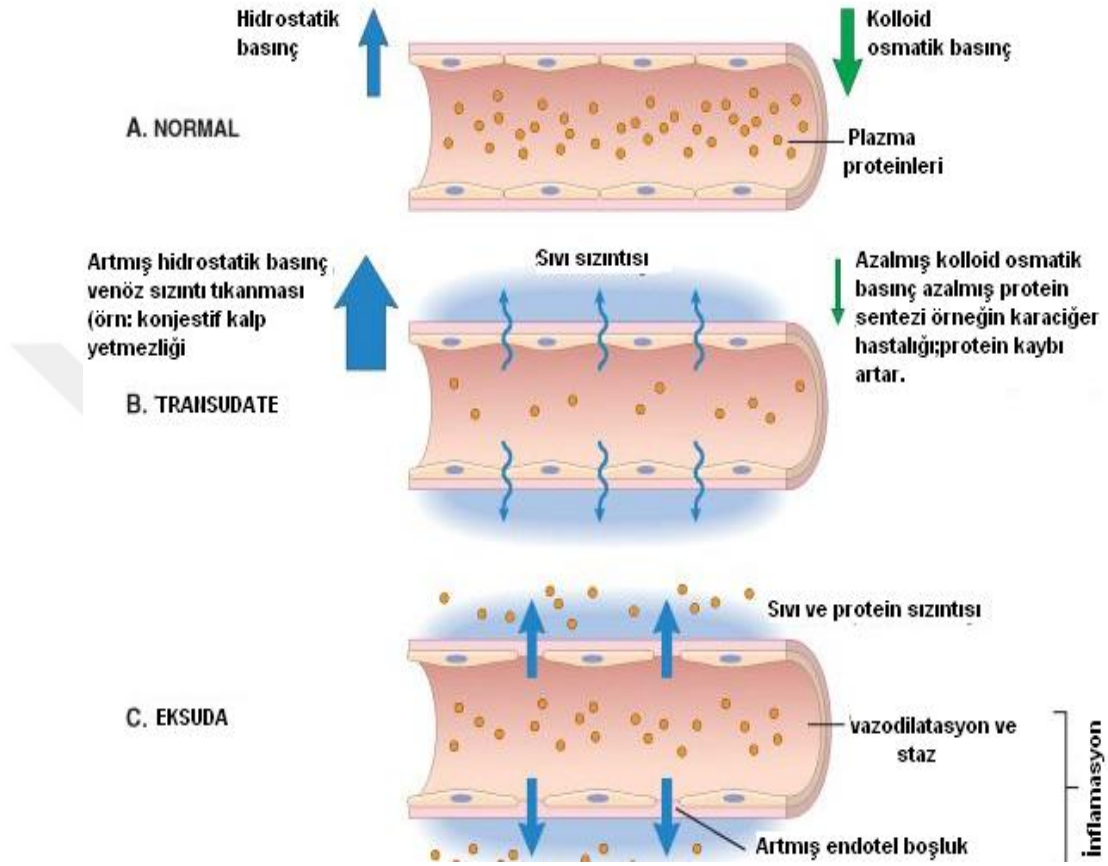
2. Kronik inflamasyon daha uzun süreler içinde sıklıkla lenfosit ve makrofajların hakim olduğu damar proliferasyonu, fibrozis ve doku nekrozu ile seyreder (Şekil 1) <sup>25</sup>.



**Şekil 1. İnflamasyon mekanizması** (Cotran ve ark. 2009'dan Türkçeleştirilmiştir)<sup>25</sup>.

Akut inflamasyonun sonuçları: rezolüsyon (geçme, kaybolma), fibrosis ile iyileşme veya kronik inflamasyon. Çeşitli reaksiyonların komponentleri ve fonksiyonel sonuçları listelenmiştir. Hasarın doğası ve şiddeti, etkilenen yer ve doku, konağın duyarlılığı gibi çeşitli farklı değişkenler inflamasyonun temel sürecini etkileyebilmektedir. Bütün akut inflamatuvar reaksiyonlarda bu üç sonuçtan biri olur.

İnflamasyonun en erken fazında çok kısa süreli refleks vazokonstrüksiyon olur. Bunu takiben arteriol kapiller yatak ve venüllerde vazodilatasyon meydana gelir. Vazodilatasyon artışı bölgesel kan akımını artırarak, intravasküler hidrostatik basıncı yükseltir. Bu sıvı başlangıçta transuda niteliğinde olmakla birlikte, kısa sürede damar duvar geçirgenliğinin artması ile değişir ve proteinden zengin sıvı yani eksüdanın kaçmasına neden olur. Sonuçta intravasküler ozmotik basınç azalır ve intersisyonel ozmotik basınç artarak intersisyonel ödeme neden olur (Şekil 2)<sup>23,24,25</sup>.



**Şekil 2. Ödem mekanizması** (Cotran ve ark. 2009'dan Türkçeleştirilmiştir)<sup>25</sup>.

Transüdaların ve eksüdaların oluşumu. A; Normal hidrostatik basınç (mavi oklar) kapiller yatağın arteriyel ucunda yaklaşık 32 mmHg ve venöz uçta yaklaşık 12 mmHg'dır. Dokuların ortalama kolloid osmotik basıncı yaklaşık 25 mmHg'dır (yeşil oklar) ki bu da ortalama kapiller basınca eşittir. Dolayısıyla, damar yatağından net sıvı akımı hemen hemen sıfırdır. B; Artan hidrostatik basınç veya azalan osmotik basınca bağlı olarak sıvı damar dışına çıktığı zaman transüda oluşur. C; İnflamasyonda artan interendotelyal boşlukların bir sonucu olarak damar permeabilitesi arttığı için eksüda oluşur.

### 2.1.2. İnflamasyonda Rol Alan Mediyatörler

İnflamasyon sırasında birçok mediyatör açığa çıkmaktadır. Başlıca önemli mediyatörlerin kaynakları ve inflamatuvar reaksiyondaki rolleri tablo 1'de özetlenmiştir<sup>25</sup>.

İnflamasyonda rol alan mediyatörler ya plazmada ya da hücrelerde bulunurlar. Plazma kökenli olanlar öncü hücreleri aktive edilecekleri zamanı bekleyen ürünlerden oluşur (komplemanlar, kininler). Hücre kaynaklı mediyatörler intraselüler granüllerde depolanır (örneğin: histamin/mast hücreleri) veya yeni sentez edilir (örneğin: PG'ler, sitokinler). Bu mediyatörlerin salıverilmeleri için uyarıya ihtiyaç vardır. Mediyatörlerin majör hücresel kaynağı; trombosit, nötrofil, monosit, makrofaj, mast hücreleri ve mezankimal hücrelerden (endotel, düz kas, fibroblast ve epitel) sağlanır ve birçoğu biyolojik aktivitelerini göstermede hedef hücrelerdeki özel reseptörleri kullanırlar.

Bir kimyasal mediyatör hedef hücreyi etkileyerek ikincil mediyatör çıkışını uyarabilir. Bu ikincil mediyatörler başlangıçtaki mediyatörlere benzeyebilir veya aynısı olabilir. Bununla birlikte karşıt aktivite gösterebilirler. Genelde yaşam süreleri çok kısadır. Organizmada ya çabuk yıkılırlar (araşidonik asit metabolitleri) ya da enzimler ile inaktive edilirler (kininaz bradikininini inaktive eder) veya inhibe edilirler (kompleman inhibitörleri). Kısaca bu sistemin düzenini ve dengesini kontrol eden bir sistem vardır<sup>23,24,25</sup>.

**Tablo1. İnflamasyona aracılık eden maddeler ve inflamasyondaki rolleri**

| Mediyatör                                    | Başlıca Kaynaklar                       | Etkileri                                                                                                                           |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>HÜCRE KÖKENLİ</b>                         |                                         |                                                                                                                                    |
| Histamin                                     | Mast hücreleri, bazofiller, plateletler | Vazodilatasyon, artmış vasküler permeabilite, endotel aktivasyonu                                                                  |
| Serotonin                                    | Plateletler                             |                                                                                                                                    |
| Prostaglandinler                             | Mast hücreleri, lökositler              | Vazodilatasyon, ağrı, ateş                                                                                                         |
| Lökotrienler                                 | Mast hücreleri, lökositler              | Artmış vasküler permeabilite, kemotaksis, lökosit adezyonu ve aktivasyonu                                                          |
| Trombosit-aktive edici faktör (PAF)          | Mast hücreleri, lökositler              | Vazodilatasyon, artmış vasküler permeabilite, lökosit adezyonu, kemotaksis, degranülasyon, oksidatif patlama.                      |
| Reaktif oksijen grupları                     | Lökositler                              | Mikropların öldürülmesi, doku hasarı                                                                                               |
| Nitrik oksit                                 | Endotel, makrofajlar                    | Damar düz kasının gevşemesi, mikropların öldürülmesi                                                                               |
| Sitokinler (TNF, IL-1)                       | Endotel, makrofajlar, mast hücreleri    | Lokal endotel aktivasyonu (adezyon moleküllerinin ekspresyonu), ateş, ağrı, anoreksi, hipotansiyon, azalmış vasküler direnç (şok). |
| Kemokinler                                   | Lökositler, aktive olmuş makrofajlar    | Kemotaksis, lökosit aktivasyonu                                                                                                    |
| <b>PLAZMA PROTEİNİ KÖKENLİ</b>               |                                         |                                                                                                                                    |
| Kompleman ürünleri (C5a, C3a, C4a)           | Plazma (karaciğerde üretilir)           | Lökosit kemotaksisi ve aktivasyonu, vazodilatasyon (mast hücre uyarılması)                                                         |
|                                              |                                         | Artmış vasküler permeabilite, düz kas kontraksiyonu, vazodilatasyon, ağrı.                                                         |
|                                              |                                         | Endotel aktivasyonu, lökosit toplanması                                                                                            |
| Kininler                                     | Doku ve plazma                          |                                                                                                                                    |
| Koagülasyon esnasında aktive olan proteazlar | Plazma (karaciğerde üretilir)           |                                                                                                                                    |

### 2.1.3. Araşidonik Asit Metabolizması ve İnflamasyondaki Yeri

Hücre membranlarında bir fosfolipid esteri şeklinde bulunan 20-karbonlu doymamış bir yağ asidi olan araşidonik asit (AA) PG sentezinin öncüsüdür. Araşidonik asit fosfolipitlerden hücresel fosfolipazlar yoluyla salıverilmektedir ve daha sonra araşidonik asit metabolizması, siklooksijenaz (PG'lerin oluşumu için) ve lipoksijenaz (lökotrienler ve lipoksinlerin oluşumu için) olarak bilinen iki biyokimyasal yolakta ilerler<sup>26</sup>.

a) *Siklooksijenaz (COX) yolu:* PG'ler mast hücreleri, makrofajlar, endotel hücreleri ve diğer birçok hücre türü tarafından üretilirler ve inflamasyonun vasküler ve sistemik reaksiyonlarında yer alırlar. PG sentez yolağındaki enzim COX enzimidir. Bugün COX–1 ve COX–2 olarak adlandırılan iki siklooksijenaz formu olduğu bilinmektedir. COX-1 ile COX-2 arasında en önemli fark COX-1'in esas olarak yapısal olması yani üretildiği hücrelerde sürekli sentez edilmesi nedeniyle daima var olmasıdır. COX-2 ise indüklenebilir bir enzimidir<sup>26,27,28</sup>.

COX–1 mide- bağırsak kanalının epitelyum hücrelerinde, damar endotelinde, trombositlerde, böbrek glomerül ve tubulus hücrelerinde ve vezikula seminaliste görece fazla miktarda bulunur.

COX–2'nin birçok organın veya yapının fizyolojik fonksiyonuna katkıda bulunduğ, o organlarda yapısal olarak meydana geldiğ ve duruma göre indüklendiğ anlaşılmıştır. (i) Böbrekte makula densada COX-2 bulunur ve tuz kısıtlanması durumunda indüklenir.

(ii) Omirilikte arka boynuzdaki nöronlarda COX-2 bulunur; periferde inflamasyon veya ağrılı uyarılar omurilikteki COX-2'yi indükler. (iii) Gastrointestinal kanal mukozasında epitelyum dışında kalan diğer hücreler COX-2 eksprese ederler (makrofajlar, nötrofiller, mofibroblastlar ve endotel hücreleri gibi). (iv) Overde gonadotropinlerin siklik etkileri ile ovülasyon yapmalarına over dokusunda COX-2 indüksiyonu eşlik eder. (v) COX-2 damar çeperinde antiaterojenik ve antitrombotik etkili bir prostaglandin türü olan prostasiklin'in oluşumuna neden olur. (vi) Vas deferens'te esas olarak konstitütif COX-2 bulunur<sup>28</sup>. COX-2 ürünü PG'ler inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynar ve kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi karakteristik inflamatuvar semptomlardan sorumludurlar<sup>26</sup>.

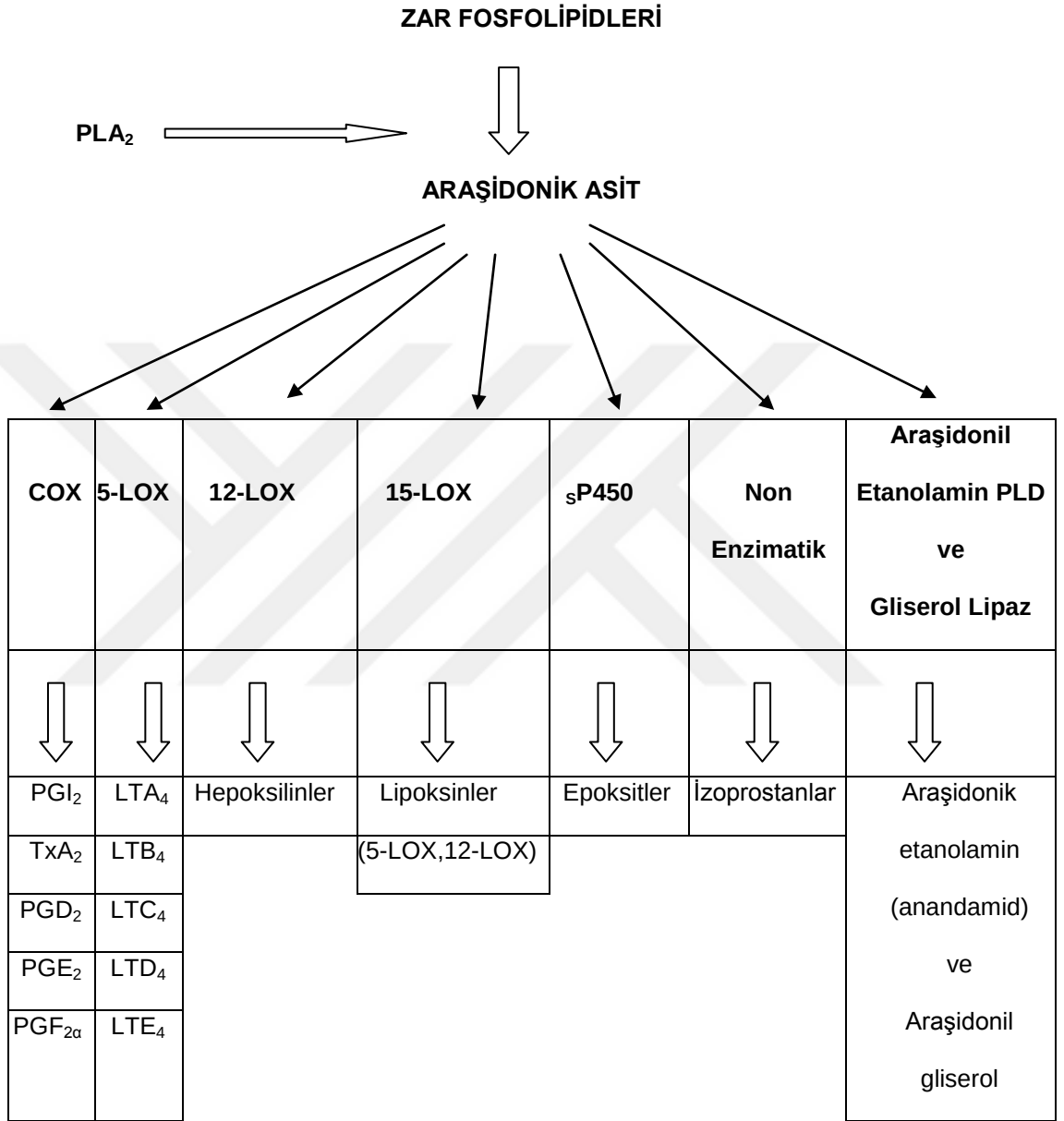
İnflamasyonda en önemli rol alan COX ürünleri PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub> (prostasiklin) ve TXA<sub>2</sub> (tromboksan)'dır. Bunların her biri, sentez yolağında yer alan spesifik bir enzimin etkisiyle ortaya çıkar. Prostasiklin bir vazodilatör, platelet agregasyonunun güçlü bir inhibitörüdür ve aynı zamanda, diğer mediyatörlerin permeabiliteyi artırıcı ve kemotaktik etkilerini belirgin bir şekilde güçlendirir. PGD<sub>2</sub> mast hücreleri tarafından yapılan en önemli PG'dir. PGE<sub>2</sub> ile birlikte vazodilatasyona sebep olur ve post-kapiller venüllerin geçirgenliğini artırarak ödem oluşumunu güçlendirir (Şekil 3)<sup>25,29</sup>.

COX tarafından araşidonik asitten sentezlenen prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) hem inflamatuvar mediyatör hem de fibroblast modülatör olarak rol alır<sup>30</sup>. Toksik uyarının ardından cilt dokusundan salıverilen PGE<sub>2</sub> lokal ödem ve hiperaleji oluşturur<sup>31</sup>.



PGE<sub>2</sub> romatoid artrit ve osteoartrit gibi hastalıklarda inflamasyonun lipid mediyatörüdür ve cilt inflamasyonunda da rol oynar<sup>32</sup>.

*b) Lipoksijenaz (LOX) yolu:* İnsanda üç major izoenzim bulunmuştur. Bunlar araşidonik asit oksidasyonunun konumlarına göre sınıflandırılan 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX'dur. 12- ve 15-LOX'un biyolojik rolü hakkındaki bilgi sınırlıdır. 5-LOX ise tam tersine üzerinde ciddi olarak çalışılmış ve biyolojik olarak en önemli LOX olarak kabul edilmiştir. 5-LOX enzimi, araşidonik asidin ikinci major yolağında kuvvetli proinflamatuvar mediyatörlerin (lökotrienler) sentezlenmesinde rol oynar<sup>26</sup>.



**Şekil 3. Araşidonik asit yolağı**

Eikozanoidler olarak da adlandırılan AA-kökenli mediatörler iki önemli ve büyük enzim sınıfı tarafından sentez edilirler: siklooksijenazlar (prostaglandinleri üreten) ve lipooksijenazlar (lökotrienleri ve lipoksinleri üreten).

## 2.2. Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİ'ler), opioid olmayan analjeziklerdir. Opioid (narkotik) analjezikler dışında kalan analjeziklere bu grup ilaçların farmakolojik etki profiline daha uygun düşen non-steroidal (steroid olmayan) antiinflamatuvar ilaçlar veya kısaca antiinflamatuvar analjezikler denir<sup>33</sup>.

NSAİ'ler ağrı, ateş, kızarıklık ve ödemin giderilmesinde etkili oldukları için inflamasyonla seyreden hastalıkların tedavisinde en fazla tercih edilen ilaçlardır<sup>34</sup>. Bu ilaçların antiinflamatuvar etkileri, steroid inflamatuvar ilaçlardan daha düşüktür. NSAİ'lerin analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik olmak üzere üç ana etkisi vardır. Bu üç etkinin bir arada bulunması NSAİ'lerin kullanımını oldukça artırmıştır. Ayrıca günümüzde NSAİ'lerin narkotik analjezikler gibi bağımlılık yapmaması, uyuşukluk ve bilinç bulanıklığı oluşturmaması nedeniyle ağrılı hastalarda çoğunlukla tercih edilirler<sup>33</sup>.

### 2.2.1. NSAİ'lerin Tarihçesi

NSAİ'lerin ateşi ve inflamasyonu şaşırtıcı bir şekilde tedavi edebilme özelliği, eski Yunanlı hekim Hipokrates'in söğüt ağacı kabuğundan ve yapraklarından elde ettiği bir ekstraktı reçete ettiği 2500 yıl öncelerine kadar (yaklaşık M.Ö. 400 yıllarına kadar) dayanmaktadır. Daha

sonra 17. yüzyılda söğüt ağacı kabuğunun etken maddesi olan salisin Avrupa'da tanımlanmıştır. Almanya'daki Kolbe firması 1860 yılında salisilik asiti seri şekilde üretmeye başlamıştır<sup>35</sup>.

Salisilik asidin tadı en güzel formu olan asetil salisilik asit (Aspirin) 1899 yılında Bayer tarafından piyasaya sürülmüştür<sup>35</sup>. Ancak aspirin ve indometazin gibi antiinflamatuvar ve analjezik ajanların etki mekanizması 1960'ların başlarına kadar aydınlatılamamıştır. 1970'li yıllarda John Vane, aspirinin ve diğer NSAİİ'lerin etki mekanizmasını keşfederek yeni antiinflamatuvar tedaviler geliştirebilme yeteneğimizi arttırdığında bu durum tamamen değişmiştir. NSAİİ'lerin romatoid artrit (RA) ve osteoartrit (OA) gibi çeşitli inflamatuvar durumları tedavi etmedeki başarıları, prostaglandin H sentaz (PGHS) veya siklooksigenaz (COX) enzimlerini inhibe etmenin antiinflamatuvar tedavilerde son derece uygun bir hedef olduğunu doğrulamıştır. Ancak yaygın NSAİİ kullanımı ile ilişkili gastrointestinal (GI) toksisiteler, uzun süreli tedavi esnasında önemli bir engel olarak ortaya çıkmıştır<sup>1,36</sup>.

1990'ların başlarında Needleman, Simmons ve Herschman'ın grubu COX enziminin, daha sonraları COX-2 olarak tanımlanacak olan indüklenebilir bir izoformunun bulunduğunu bildirmişlerdir. Geleneksel NSAİİ'lerin COX'un her iki izoformunu da inhibe ettikleri bilinmektedir ve bu ilaçların GI toksisiteleri COX-1 yolağı üzerinden üretilen gastro-protektif PG'lerin inhibisyonuna bağlanmaktadır. Özet olarak, geleneksel NSAİİ'ler ile karşılaştırıldığında daha az advers etkileri bulunan üstün antiinflamatuvar ve analjezikler geliştirmek için çabalarını selektif COX-2 inhibitörlerinin üzerinde odaklamışlardır. Klasik NSAİİ'lerle ortaya çıkan yan etkileri göstermeyen COX-2 enzimini selektif olarak

inhibe eden çeşitli yeni moleküller (selekoksib, refokoksib, voldokoksib) geliştirilmiştir<sup>1</sup>.

## **2.2.2. NSAİİ'lerin Sınıflandırması ve Etki Mekanizması**

### A. Kimyasal yapılarına göre:

1. Salisilatlar: Aspirin ve Sodyum salisilat
2. Para-aminofenol türevleri: Parasetamol
3. Pirazolon türevleri: Propifenazon, Aminopirin, Dipiron
4. Profenler (Fenilpropionik asit türevleri): İbuprofen, Naproksen, Fenbufen, Tiaprofenik asit, Ketoprofen, Fenoprofen kalsiyum
5. Fenilasetik asit türevleri: Diklofenak sodyum, Nabumeton, Fenklofenak
6. İndolasetik asit türevleri: İndometasin, Tolmetin, Ketorolak trometamol, Sulindak, Etodolak,
7. Fenamik asit türevleri: Mefenamik asit, Flufenamik asit, Etofenamit
8. Oksikamlar ve diğer ilaçlar: Piroksikam, Tenoksikam, Meloksikam
9. Diğer ilaçlar: Prokuazon, Azopropazon, Metotrimoprazin, Nimesulid, Glukozamin hidrokorür, Hyalüronik asid ve türevleri ve COX-2 inhibitörleri; Selekoksib, Rofekoksib<sup>33</sup>.

### B. Seçiciliklerine göre

1. COX-1 Selektifler: Valeril salisilat
2. COX-2 Selektifler: Diklofenak, Selekoksib, Rofekoksib, Valdekoksib, Parekoksib,
3. Non Selektifler: Naproksen, İbuprofen, Ketoprofen, İndometasin<sup>37</sup>.

### C. Yarılanma ömürlerine göre;

1. Kısa yarı ömürlüler: ( $t_{1/2}$ : 6 saatin altında): Aspirin, diklofenak, etodolak, ibuprofen, indometazin, ketoprofen, tolmetin, mefenamikasit, flufenamik asit.
2. Uzun yarı ömürlüler: ( $t_{1/2}$ : 10 saatin üstünde): Diflinusal, nabumeton, naproksen, proksikam, meloksikam<sup>22</sup>.

NSAİ'lerin ana etki mekanizması COX enzimini bloke ederek, PG sentezini baskı altına almak yoluyla olduğu kabul edilmektedir. NSAİ'ler hem analjezik, hem antipiretik ve hem de antiinflamatuvarlardır.

Analjezik Etki: COX yolunun ürünleri olan üç gruptan birisi PG'dir. PG'ler bir yandan oldukça kuvvetli iltihap aracıdır, bir yandan da oldukça önemli fizyolojik işlevler görürler. PG'ler hiperaljezik ağrı mediyatörleridir (özellikle PGE<sub>2</sub> ve Prostaglandin). Hiperaljezik ajanlar nosiseptörlerin ağrı mediyatörlerine (histamin, serotonin, bradikinin, P

maddesi, anjiotensin vb.) duyarlılığını artırır. NSAİ'ler COX inhibisyonu yaparak buna engel olurlar.

Antipiretik Etki: Enfeksiyon, kanser, greft reaksiyonu, enfektif olmayan inflamasyon, doku hasarlarında ateş yapan maddeler (endojen pirojenler) salıverilir (Örn: IL-1b, TNF- $\alpha$ , IL-6, interferon- $\beta$ , interferon- $\gamma$ ). Bunlar makrofajlardan salıverilirler. Bu sitokinler termoregülatör merkezde PGE<sub>2</sub> salıverilmesini artırır. NSAİ'ler PGE<sub>2</sub> nin sentezini azaltarak düşmüş olan termoreseptör duyarlılığını normalleştirirler.

Antiinflamatuvar Etki: NSAİ'lerin esas antiinflamatuvar etki mekanizması COX enzim inhibisyonudur. Bunun dışında NSAİ'lerin antiinflamatuvar etkisine diğer bazı olayların da (Nötrofil lökositlerin çeşitli uyaranlar tarafından aktivasyonunun inhibisyonu, aktif oksijen radikallerinin bağlanması, lizozom membranının stabilizasyonu vb.) katkısı vardır<sup>33</sup>.

### **2.2.3. NSAİ Kullanım Alanları**

NSAİ'lerin antiinflamatuvar ajan olarak başlıca klinik kullanım alanı romatoid artrit ve osteoartrit gibi kas-iskelet sistemi hastalıklarıdır. Genel olarak, NSAİ'ler hastalığa eşlik eden ağrı ve inflamasyonda sadece semptomatik iyileşme sağlarlar, patolojik doku hasarının ilerlemesini engellemezler ve “hastalığı modifiye eden” antiromatizmal ilaçlar olarak görülmezler. Birkaç NSAİ FDA tarafından

ankilozan spondilit ve gut tedavisi için onay almıştır. Hafif artropatilerde istirahat ve fizik tedaviyle birlikte NSAİİ kullanımı genellikle etkilidir<sup>22</sup>.

NSAİİ'lerin diğer kullanım alanları psöriyatik artrit, reiter sendromu, romatik ateş, kas-iskelet sistemi ile ilgili lezyonlar, tümörlerin kemiğe metastazına bağlı kemik ve eklem ağrıları, baş ağrısı, diş ağrısı, yumuşak doku zedelenmesi ve postoperatif ağrılardır<sup>32</sup>.

NSAİİ'ler trombosit agregasyonunu etkileyerek kanama zamanını uzatırlar. Aspirin dışındaki NSAİİ'lerde bu inhibisyon reversibl olduğundan kardiovasküler koruma amaçlı kullanımı uygun olan tek NSAİİ aspirindir<sup>38</sup>.

#### **2.2.4. Diklofenak'ın Etki Mekanizması**

Diklofenak analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar özellikleri bulunan en sık reçete edilen NSAİİ'lerden biridir<sup>21</sup>. Bu grup ilaçların mide ve duodenum mukazasını bozucu etkisi diğer NSAİİ'lerin çoğuna göre daha zayıftır. Mide-barsak kanalından tam olarak ve çabuk absorbe edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 1.2-1.8 saat kadardır<sup>33</sup>.

Diklofenak güçlü analjezik ve antiinflamatuvar etki gösterir<sup>39</sup>. Diğer non-selektif NSAİİ'ler gibi diklofenak hasarlı dokuda ve santral sinir sisteminde COX-1 ve COX-2 inhibisyonu yoluyla PG sentezini engeller<sup>40,41</sup>. PG'lerden bağımsız mekanizmalar da diklofenak'ın periferik



ve santral antinoseptif etkisinde rol oynar. Primer noseptif nöronlarda nitrik oksit sGMP-potasyum kanal yolağını aktive eder. Bunun sonucunda nöron hiperpolarize olur ve ekstrasitliliği azalır<sup>42,43,44,45,46</sup>.

Bütün NSAİİ'lerin en iyi tanımlanmış ve kabul edilmiş etki mekanizması COX inhibisyonudur. İlk olarak Vane etki mekanizması olarak COX inhibisyonu yoluyla PG üretiminin inhibisyonunu öne sürmüştür. NSAİİ'ler tarafından PG ve tromboksan sentezinin inhibisyonu pek çok invitro ve invivo deneysel modelde gösterilmiştir. Diklofenak kanda ve sinoviyal dokuda proinflatuvar noseptif PG sentezini inhibe eder<sup>47,48</sup>. Diklofenak PGE<sub>2</sub> üretiminin en etkili inhibitörleri arasındadır. Diğer NSAİİ'lere göre 3-1000 kez daha potent olduğu gösterilmiş<sup>49,50</sup>.

COX-1 konsantrasyonu göreceli olarak stabildir ve normal platelet fonksiyonu, renal kan akışının düzenlenmesi ve prostasiklin aracılığıyla gastrik mukozanın korunmasında rol oynar<sup>40</sup>. COX-2 ekspresyonu doku hasarında ve proinflatuvar mediyatörlere cevaben dramatik olarak artabilir. Warner ve arkadaşları diklofenak'ın terapötik dozuna COX-2'ye dört kez daha selektif olduğunu aynı zamanda COX-1'i %70 oranında inhibe edebildiğini göstermişlerdir<sup>21</sup>.

#### **2.2.5. Diklofenak Kullanım Alanları**

Diklofenak uzun süreli semptomatik romatoid artrit tedavisi, osteoartrit, ankilozan spondilit, ağrı, primer dismenore ve akut migren için ABD'de onaylanmıştır<sup>22</sup>. Romatoid artirite karşı aspirin ve indometasin

derecesinde ve osteoartrite karşı da indometasin derecesinde etkili bulunmuştur<sup>33</sup>.

## 2.3. Biber Bitkisi ve Tıpta Kullanımı

### 2.3.1. Tarihçe

Acı biber, *solancee* familyasına ait bir bitkidir. En çok bilinen alt tipleri *Capsicum anuum L.*, *Capsicum Frutescens L.* ve *Capsicum Fastigiatum*'dur<sup>51</sup>. Bu bitki grubunun en önemli özelliği tadının çok acı olmasıdır. Bu nedenle baharat veya tadlandırıcı olarak binlerce yıldır çeşitli dünya mutfaklarında kullanılmaktadır. Tarihsel olarak bu bitkiler mutfak dışında da kullanım alanı bulmuştur. Mesela İnka'ların bu bitkileri kurutup yakarak istilacı İspanyol'ların geçici olarak kör olmasını sağladıkları bilinmektedir. Bu olaydan yaklaşık 400 yıl kadar sonra yine Amerika'da bu maddelerden ağrı kesici olarak kullanılması da özellikle Amerikan yerlilerinde eski tarihlerden beri yaygındır ve diş ağrısına karşı da ağıza uygulandığı bilinmektedir. Çin İmparatorları'na hizmet eden hadım edilmiş hizmetkârların skrotumlarına kastrasyon sonrası acı biber tozlarının sürüldüğünü gösteren tarihi kayıtlar mevcuttur<sup>7</sup>.

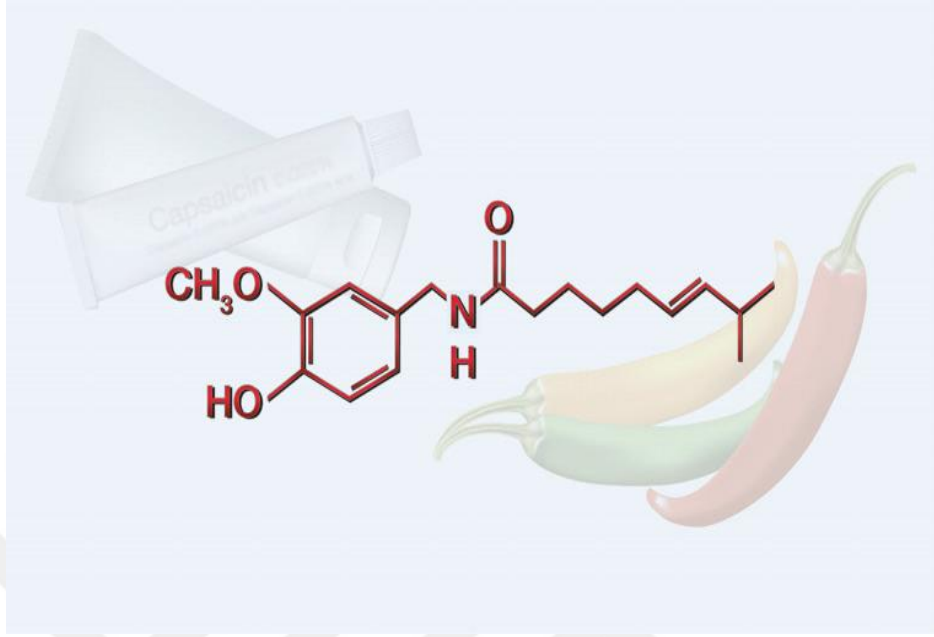
Kapsikum türü bitkilere acı tadını kapsaisinoid adı verilen kimyasal gruptaki maddeler verir. Bu grup maddelerden özellikle kapsaisin, sinir bilimi araştırmalarında oldukça önemli bir yer bulmuştur. Bu maddenin etkilerinin araştırıldığı her yıl yaklaşık 650-700 makale yayınlanmaktadır. İlk olarak Macar araştırmacı Jansco'nun yanlılıkla

yüksek dozda topikal ve daha sonra sistemik olarak uyguladığı kapsaisinin fare, sıçan ve kobaylarda yeni bir çeşit analjezi yarattığının saptanması ile bu moleküller yoğun ilgi görmeye başlamıştır. Bu hayvanlarda zararlı bazı kimyasalardan kaçınma davranışı kaybolmuşken, fiziksel uyarılara hassasiyet devam etmektedir. Jansco bu duruma kapsaisin desensitizasyonu adını vermiştir ve günümüzde de bu terim kullanılmaya devam etmektedir<sup>4</sup>.

### **2.3.2. Kapsaisinoidlerin Kimyasal Yapısı ve Temel Özellikleri**

Kapsikum türü bitkilere acı tadını veren maddeler arasında kapsaisin, nordihidro-kapsaisin, homodihidro-kapsaisin, dihidro-kapsaisin ve homokapsaisin sayılabilir<sup>5</sup>.

Yaklaşık yüzyıl kadar önce kimyasal yapıları saptanıp sentezlenen bu gruba vanilloidler de denmektedir. Kimyasal olarak, kapsaisin vanilil amid bir türevi (8-metil-N-vanilil-6-nonenamide)'dir (Şekil 4)<sup>52</sup>.

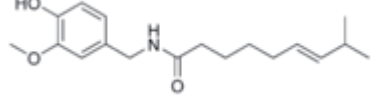
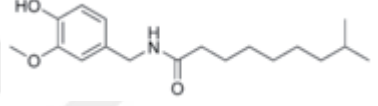
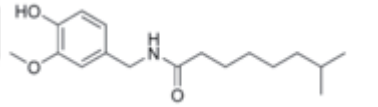
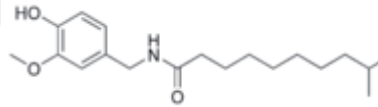
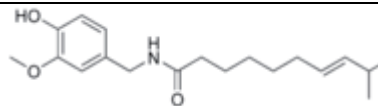
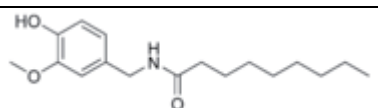


**Şekil 4. Acı biber ve Kapsaisin molekülü<sup>52</sup>.**

Kapsaisin yapısı kısmen 1919 yılında Nelson tarafından açıklanmış ve 1930 yılında ilk defa Spath ve Darling tarafından sentezlenmiştir<sup>7</sup>. Kosuge ve Inagaki acı biberden kapsaisinoid adını verdikleri kapsaisine benzeyen maddeleri izole etmişlerdir<sup>53</sup>.

Acı biberin yapısında kapsaisin, nordihidro-kapsaisin, homodihidro-kapsaisin, dihidro-kapsaisin ve homokapsaisin olarak adlandırılan kapsaisinoidler bulunur<sup>5</sup>. Bunlardan temel kapsaisinoidleri oluşturan kapsaisin ve dihidro-kapsaisin tat ve sinirler üzerine etkisi minör kapsaisinoidlere (nordihidro-kapsaisin, homodihidro-kapsaisin ve homokapsaisine) göre iki kat daha fazladır<sup>53</sup>. Kapsaisinoidlerin bağıl oranları, kimyasal yapıları ve acı tatlarının derecesini ifade eden Scoville dereceleri Tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2. Doğal ve sentetik kapsaisinoidler<sup>53</sup>.**

| Kapsaisinoid          | Bağıl oran | Scoville acı derecesi | Kimyasal Yapı                                                                         |
|-----------------------|------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Kapsaisin             | %69        | 16,000,000            |    |
| Dihidro-kapsaisin     | %22        | 15,000,000            |    |
| Nordihidro-kapsaisin  | %7         | 9,100,000             |   |
| Homodihidro-kapsaisin | %1         | 8,600,000             |  |
| Homokapsaisin         | %1         | 8,600,000             |  |
| Nonivamid             |            |                       |  |

Kapsaisinoidlerin analjezi, antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan ve antiobezite gibi çeşitli farmakolojik etkileri vardır<sup>5</sup>.

Ağrının geçirilmesi ile ilgili olarak üzerinde en çok çalışılan kapsaisinoid kapsaisin'dir. Kapsaisin'in inflamatuvar sıcak ve zarar verici kimyasal hiperaljeziyi azaltmak ya da romatoid artrit veya fibromyaljiden kaynaklanan ağrıyı azaltmak için oral veya lokal olarak kullanıldığı bilinmektedir<sup>54</sup>. Kapsaisin ayrıca, cerrahi sonrası ağrıyı ve osteoartrit ağrısını tedavi eden uzun etkili bir analjezik olarak Faz II çalışmalarında bulunan Adlea adlı bir ilacın da etken maddesidir<sup>55</sup>.

*Capsicum baccatum* L. var. *Pendulum* (Willd.) (Solanaceae) (Eshbaugh, 1970) Brezilya'da en çok tüketilen acı biber türüdür ve içinde bulunan kapsaisinoidler gibi bileşiklerin inflamatuvar prosesi inhibe ettiği saptanmıştır. *C. baccatum*'un kloroform ile ekstrakte edilen haldeki başlıca bileşeninin kapsaisin olduğu gösterilmiştir Kapsaisin buna uygun olarak, inflamatuvar odağa doğru olan nötrofil göçünü inhibe edebilmiştir. Bu durum *C. baccatum* suyunun antiinflamatuvar etkisinin ilk kez gösterilmesidir<sup>56</sup>. Bu bulgu biber suyunun antiinflamatuvar etkisini bildiren birçok çalışma ile desteklenmiştir

Kapsaisinoidler sadece "in vitro" deneylerde değil aynı zamanda "invivo" çalışmalarda da antitümör aktivite sergilemişlerdir. Hücre kültürlerinde kapsaisin, meme kanseri hücre migrasyonunu bloke edebilmiş ve prostat kanseri hücrelerini öldürebilmiştir. Doğrudan kapsaisin enjeksiyonu tümörlerin boyutlarında %80 azalmaya yol açmıştır. Kapsaisinin kanser hücrelerinde apoptoza neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda kapsaisinin bazı prostat kanser hücrelerindeki apoptoz oranını artırdığı gösterilmiştir<sup>5,57,58</sup>.

Acı biberlerin yendikleri zaman bir ısı hissi oluşturdukları ve enerji harcanmasını arttırdıkları iyi bilinmektedir. Termogenez ve enerji metabolizması obezitenin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabildikleri için kırmızı acı biberler de obesite yönetimi için potansiyel gıdalar olarak kabul edilmişlerdir. Kapsaisinoidlerin antiobezite özelliklerine sahip olduklarını gösteren büyük miktarda kanıtlar mevcuttur. Kapsaisin ve dihidrokapsaisin'in deney hayvanlarında olduğu kadar klinik çalışmalarda da enerji harcanmasını artırarak ve vücutta yağ birikimini azaltarak obeziteyi inhibe ettikleri bildirilmiştir<sup>5</sup>.

#### **2.4. Kapsaisinin Fizyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması**

Fonksiyonel bir kapsaisin vanilloid reseptörünü kodlayan bir cDNA'nın izolasyonundan önce, kapsaisinin ve analoglarının sıçanlarda koruyucu göz kırpma davranışı üzerindeki doza bağımlı etkilerinin ölçülmesiyle kapsaisin etkilerine bir reseptörün aracılık ediyor olabileceğini gösteren kanıtlar ortaya çıkmıştır. Daha sonraları, kültürdeki sensoriyel nöronlarda içe doğru kalsiyum akımını ve akım yanıtlarını ölçen doz-yanıt denemeleri yapılmıştır<sup>59</sup>.

Kapsaisinin etki mekanizmaları araştırılırken çeşitli sentetik analogları da sentezlenmiştir. Bunlardan özellikle resiniferatoksin (RTX), kapsaisine ilişkin araştırmalarda oldukça önemli mesafe katedilmesini sağlamıştır. Eski Roma zamanındaki hekimlerin kullandığı *Euphorbia resinifera* adlı bitkinin lateksinden elde edilen bir diterpin olan RTX'in aktivite için esansiyel olan ortak bir vanilloid grubunu içererek kapsaisin ile yapısal benzerliğı paylaştığı saptanmıştır. Gerek kapsaisin gerekse RTX

kültürdeki sensoriyel nöronlarda doza bağımlı bir içe-kalsiyum akımını indüklerler<sup>60</sup>. RTX, dorsal kök ganglion membranlarında belirgin bir nanomolar bağlanma afinitesine sahiptir ve başlangıçta, vanilloid bağlanma yerleri gibi görünen yerlerin karakterize edilmesi için yüksek afiniteli bir radyoligand olarak kullanılmıştır. Bu maddenin radyoaktif olarak işaretlenmesinden sonra dorsal kök ganglionlarında spesifik bölgelere bağlandığı görülmüş ve bu bölgelere “Vanilloid Reseptörü” adı verilmiştir. Günümüz terminolojisinde bu reseptör “geçici reseptör potansiyeli vanilloid 1” (transient receptor potential vanilloid 1; TRPV1) olarak adlandırılmaktadır<sup>7</sup>.

TRP katyon kanalları aminoasit benzerliklerine dayanılarak memelilerde 6 aileye ayrılabilir: TRPC, TRPM, , TRPA, TRPML, TRPP ve TRPV<sup>37</sup>.

**TRPC Ailesi:** TRPC alt-ailesinin sekans homolojisine ve fonksiyondaki benzerliklere dayanan üyeleri dört alt-aileye ayrılırlar: TRPC1, TRPC2, TRPC3/6/7 ve TRPC4/5. TRPC2 insanlarda bir yalancı bir gendir. Bütün TRPC kanallarının depo ile işletilen kanallar şeklinde etki ettikleri, hücre içi kalsiyum kanallarının eksilmesiyle aktive oldukları öne sürülmüştür<sup>37</sup>.

**TRPM ailesi:** TRPM alt-ailesinin üyeleri sekans homolojisine göre 4 gruba ayrılırlar: TRPM1/3, TRPM2/8, TRPM4/5 ve TRPM6/7. TRPM1 normal melanosit pigmentasyonu ile ilgilidir. TRPM2 hücrelerde redoks durumunun bir algılayıcısı olarak işlev görür. TRPM3 biyofiziksel özellikleri açısından büyük farklılıklar gösterdiği saptanmış. TRPM4’ün



mast hücrelerine  $Ca^{+2}$  ve dendritik hücre migrasyonunun girişinin önemli bir düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir. Dilin tat reseptör hücrelerinde bulunan TRPM5 tatlı, aminoasit ve acı uyarıların iletimi açısından zorunlu gibi görünmektedir. TRPM6 ve 7 kanal ve enzim aktivitelerini kombine ederler ve  $Mg^{+2}$  homeostazında yer alırlar. TRPM8 soğukla ve farmakolojik ajanlarla aktive olarak “soğuk” hissini başlatan bir kanaldır.

**TRPA ailesi:** TRPA ailesi şu anda tek bir memeli üyesini kapsamaktadır. Bazı çalışmalarda noksiyöz soğuk ile aktive olan ancak diğer çalışmalarda noksiyöz soğuk ile aktive olmayan TRPA1. Bir çalışma TRPA1 aktivasyonunun soğukla-indüklenen  $Ca^{+2}$  yükselmesine sekonder olduğunu düşündürmüştür. Ancak bu durum yakın bir zaman önce reddedilmiştir (Karashima ve ark. 2009). TRPA1’in ayrıca, omurgalı tüylü hücrelerinin (iç kulaktaki) mekano-sensitif transdüksiyon kanalının bir komponenti olduğu da öne sürülmüştür (Corey ve ark. 2004; Nagata ve ark. 2005). Ancak, TRPA1(-/-) fareler, işitme veya vestibül fonksiyonlarında bir bozukluk göstermemişlerdir (Bautista ve ark. 2006; Kwan ve ark. 2006). TRPA1 nosiseptör bir kanal olarak fonksiyon gösterir<sup>37</sup>.

**TRPML ailesi:** TRPML ailesi üç memeli üyesinden oluşur (TRPML1-3). TRPML kanalları muhtemelen hücre içi veziküllere sınırlıdır ve TRPML’yi (mucolipid-1) kodlayan gendeki (MCOLN1) mutasyonlar insanlarda mukolipidozis tip IV (MLIV) adlı nörodejeneratif bozukluğun sebebidir. TRPML1, geç endositik yolda ve özellikle geç endozom-lizozom hibrid vezikülleri arasındaki birleşmede endozomların sınıflandırılmasında önemli olan katyon-selektif bir iyon kanalıdır. TRPML2 henüz fonksiyonel olarak karakterize edilmemiştir. TRPML3 tüylü hücre

olgunlaşması, stereosiliya olgunlaşması ve hücre içi vezikül transportu açısından önemlidir.

**TRPP ailesi.** TRPP ailesi yapısal açıdan iki farklı gruba ayrılan polisistinleri kapsar; polikistik böbrek hastalığı 1-benzeri (PKD1-benzeri) ve polikistik böbrek hastalığı 2-benzeri (PKD2-benzeri). Memelilerde PKD1-benzeri grubun üyeleri PKD1 (son zamanlarda TRPP1 şeklinde yeniden sınıflandırılmıştır. PKD2-benzeri üyeler ise PKD2, PKD2L1 ve PKD2L2'yi kapsar. Bunlar daha sonra sırasıyla TRPP2, TRPP3 ve TRPP5 şeklinde yeniden adlandırılmışlardır. Benzer şekilde TRPP1 de tek bir çalışmada TRPP1 ile transfekte edilen CHO hücrelerinde katyon indüksiyonunun bildirilmesine karşı TRPP1'in kendi başına bir kanal olduğunu gösteren kanıtlar bulunamamıştır. TRPP1 ile birlikte eksprese edilen TRPP2 için de benzer tek-kanal kondüktansı, monovalan ve divalan katyon seçiciliği ve blokerlere karşı benzer hassasiyet gözlenmiştir. TRPP2 siliya hareketleri, kalp, böbrek ve iskelet kası gelişimi açısından önemlidir. TRPP2'nin ayrıca hücre içi  $Ca^{+2}$  serbestletici bir kanal olarak etki etmesi de muhtemeldir<sup>37</sup>.

#### **2.4.1. Vanilloid Reseptörü (TRPV1)**

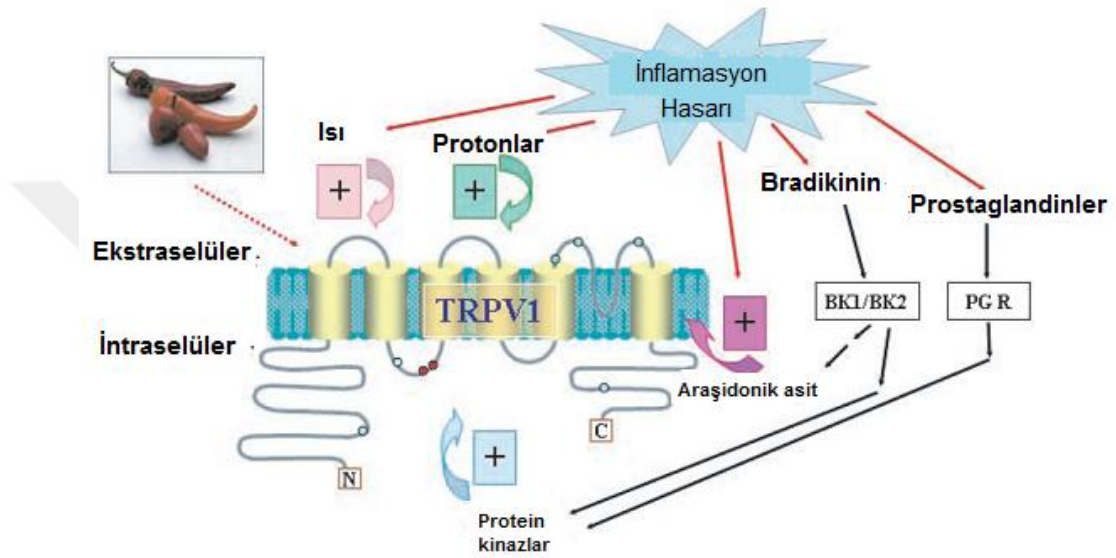
TRPV ailesi yapı ve fonksiyona dayalı bir şekilde 4 gruba ayrılırlar: TRPV1/2, TRPV3, TRPV4 ve TRPV5/6. TRPV (1-4) çeşitli kimyasallar tarafından aktive edilebilen ısıya duyarlı, seçici olmayan katyon kanallarıdır. TRPV5 ve TRPV6 fizyolojik koşullarda intestinal ve böbrek tübül epitelyum hücrelerinde kalsiyum emiliminde ve geri emiliminde yer alan kalsiyuma duyarlı kanallardır<sup>37</sup>.

Kapsaisin ve kapsasinoidler, temel etkilerini TRPV1 üzerinden gösterirler<sup>5</sup>. TRPV1'in depolarizasyonla aktivasyonu, sıcaklığın artmasıyla artış gösteren bir kanal açılma hızıyla sıcaklığa güçlü bir şekilde bağımlıdır.  $V_{1/2}$ , hem artan sıcaklıkla hem de ekzojen ajanlarla hiperpolarize edici yönde şift yapar. Kapsaisin, resiniferatoksin ve olvanil TRPV1'in vanilloid grubuna sahip olan ekzojen agonistleridir ancak reseptör, vanilloid grubu bulunmayan endojen lipidler tarafından da aktive edilebilir.<sup>37</sup>

TRPV1 seçici olmayan bir katyon kanalıdır<sup>61</sup>. Katyon geçirgenliği açısından en çok divalent kalsiyum iyonlarına geçirgendir, kalsiyumu magnezyum iyonu takip eder, daha sonra ise monovalan potasyum ve sodyum iyonları gelir. Bu iyon kanalı vücutta birçok yerde eksprese edilir. Fizyolojik açıdan en önemli ekspresyon yeri sinir sistemidir. Özellikle periferik sinirlerden miyelinsiz C lifleri ve miyelinli A-delta liflerinde eksprese edilir. C lifleri; miyelinsiz, ince, yavaş iletimli liflerdir. Zararlı uyarıları iletirler, hem mekanik-termik hem de kimyasal uyarıya duyarlıdır ve yanıcı ağrıdan sorumludurlar<sup>62</sup>.

Kapsaisin duyarlı duyu sinirlerinin ortak özelliği TRPV1 reseptörüne etki etmeleridir. TRPV1'in aktivasyonunda ise zararlı ısı ( $>43^{\circ}\text{C}$ ), ekstraselüler proton ve kapsaisin etkilidir<sup>63</sup>. TRPV1 kapsaisin gibi vanilloidler, düşük pH, yükselmiş sıcaklık ve anandamid gibi araşidonik asit metabolitlerini kapsayan çok çeşitli uyarılar tarafından doğrudan aktive edilir. Protein kinaz aktivitesi aracılığıyla bradikinin reseptörleri ve PG'ler tarafından dolaylı olarak aktive edilir. TRPV1'in farklı mediyatörler

tarafından aktive edilmesi açısından çeşitli aminoasitler önem taşımaktadır (Şekil 5)<sup>64</sup>.



**Şekil 5. TRPV1 reseptörü ve aktivatörleri:** Kapsaisin, noksiyöz ısı (ateş) ve ekstrasellüler protonlar ( $H^+$ ) ile aktive olan TRPV1 eksprese eden nosiseptör terminali<sup>64</sup>.

Periferik duyu sinirlerde aksiyon potansiyelinin doğal akış yönü periferden santrale doğrudur. Duyusal sinir iletiminin doğal akış yönünde olması ortodromik, aksi yönde yapılması antidromik olarak isimlendirilir<sup>65</sup>. Kapsaisin duyarlı duyusal liflerde TRPV1 aktivasyonu antidromik cevap ile P maddesi ve kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP) gibi nöropeptitlerin salıverilmesini sağlayarak vazodilatasyona, salgı artışına ve nörojenik ödeme yol açar. Tekrarlayan kapsaisin uygulamaları, liflerin uzun dönemli duyarsızlaşmasına neden olmakta bu olay ise ağrı duyumunun kaybolmasıyla sonuçlanmaktadır<sup>66,67</sup>.

#### 2.4.2. Nöronal Desensitizasyon

Duyusal nöronların vaniloidler tarafından uyarılmasının ardından, nöronların vaniloid yüklemesine yanıt vermedikleri veya nöronların zarar verici ısıdan mekanik basıya veya endojen (örneğin; histamin ve bradikinin) veya ekzojen (örneğin; ksilen ve hardal yağı gibi) aljezik-proinflatuvar maddelere kadar çok çeşitlilik gösteren uyarılara karşı dirençli olduğu refrakter bir dönem gelir. İlk olarak 1949 yılında tanımlayan Nicholas Jansco nöronal duyarsızlığın iki şekli arasında bir ayırım yapmamıştır: bunları ortak bir şekilde duyarsızlaşma (desensitizasyon) olarak adlandırmıştır (Jansco duyusal sinirlerin kapsaisinle duyarsızlaşmasını ilk olarak 1949 yılında Macaristan'da tanımlamıştır). Ancak bu inceleme çalışması Jansco'nun kendisi tarafından değil, karısı ve çalışma arkadaşı Aurelia (Aranka) ve öğrencisi Ja'nos Szolcsa'nyı tarafından yazılmıştır.

Duyarsızlaşma ile bir agonist tarafından işgal edilen reseptörde aktivite kaybı meydana gelir. Örneğin, sürekli kapsaisin varlığında kapsaisin tarafından açığa çıkartılan akımlar hızla bir şekilde söner. Taşıflaksi ise tekrarlanan agonist uygulamalarına karşı giderek azalan bir yanıtı ifade eder. Taşıflaksi vaniloid yüklemesine karşı seçicidir ve nöronların diğer uyarılara yanıt vermelerini engellemez. Bozulmuş nöronlar ise, uyarılar hedef VR'ler (vaniloid reseptörler) olsa da olmasa da çeşitli uyarılara yanıt vermezler. Nöronal işlevlerin vaniloidler tarafından bozulması genellikle, vaniloidlere duyarlı nöronların işlevsizleşmesi olarak adlandırılır<sup>7,68</sup>.

### 2.4.3. Kapsaisin Kullanım Alanları

Dünyanın pek çok yerinde baharat olarak tüketilen acı biber, içerdiği kapsaisin nedeniyle tıp alanında da oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>52</sup>.

Kapsaisin içeren yakılar veya merhemler osteoartrit, post-herpetik nevralji, romatoid artrit ve diyabetik nöropati<sup>69</sup> gibi çeşitli hastalıklarda, başka bir deyişle kronik ağrıyı geçirmek amacıyla topikal olarak uygulanırlar. Birçok ülkede lokal kapsaisinoid preparatları reçetesiz bir şekilde satılmakta veya bir halk ilacı olarak kullanılmaktadır<sup>70</sup>.

### 2.5. Deney Hayvanlarında İnflamasyon Oluşturma Yöntemleri

Deney hayvanlarında inflamasyon oluşturmak amacıyla kullanılan ajanların bazıları şunlardır: lambda ( $\lambda$ )-karagenin<sup>71</sup>, bradikinin, serotonin<sup>72</sup>, histamin, dekstran, formaldehit<sup>73,74</sup>, araşidonik asit<sup>75</sup>, ksilen, asetik asit<sup>76</sup>, Freund adjuvanı (öldürülmüş *Mycobacterium butyricum* süspansiyonu)<sup>77</sup>, kroton oil<sup>78</sup>, prostaglandin E<sub>1</sub><sup>79</sup>, Brewer's yeast (maya) solüsyonu, yumurta albumin<sup>71</sup>, pamuk pellet<sup>80</sup>, 12-O-Tetradekanoilforbol Asetat (TPA)<sup>81</sup>, Forbol miristat asetat (PMA)<sup>82</sup> ve siklofosamid<sup>78,81</sup>.

Yukarıda sayılan inflamatuvar ajanlar içerisinde en çok lambda-karagenin (chondrus'dan elde edilen bir ekstre) kullanılmaktadır.

Lambda-karagenin'in genellikle % 1'lik solüsyonu (serum fizyolojik veya distile su içerisinde hazırlanmakta) sıçanların sağ arka pençesine subplantar yoldan uygulanmaktadır<sup>20</sup>. Vücut ağırlığına bakılmaksızın her bir sıçana aynı miktarda karagenin solüsyonu verilir.

Deney hayvanlarındaki inflamasyon modelleri akut ve kronik inflamasyon testleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır<sup>81</sup>.

#### **2.5.1. Akut İnflamasyon Testleri**

Sıçanlarda karagenin'le oluşturulmuş pençe ödemi: İrlanda dilinde İrlanda yosunu anlamına gelen “carraigín” kelimesinden köken alan karagenin sadece Britanya adalarının, Avrupa'nın ve Kuzey Amerika'nın Atlantik kıyılarındaki kayalık alanlar boyunca bulunan *Chondrus crispus* adlı kırmızı alg türünü ifade etmekle kalmamakta ama aynı zamanda bu türün, Britanyalı bir eczacı tarafından 1862 yılında keşfedilen mukopolisakkarit ekstraktını da ifade etmektedir.

Karageninler yapısal olarak, galaktoza benzeyen tekrarlayan monomerlerden oluşan bir grup kompleks polisakkarittir ve başlıca üç tipleri vardır: Lambda, kappa ve iota. Bu türlerin her birinin, termal olarak geri dönüşlü olan kendi jel karakteristikleri vardır. Lambda formu oda sıcaklığında güçlü bir şekilde jelleşmez ve inflamatuvar bir yanıtı indüklemek üzere enjekte edilebilir<sup>20</sup>. Genellikle lambda-karagenin kullanılır. Buna karşılık histamin, dekstran, serotonin, formaldehit gibi ajanlar da kullanılmaktadır<sup>73,74</sup>.

Farelerde araşidonik asit, PMA gibi ajanlarla oluşturulmuş kulak kepçesi ödemi: İkinci sıklıkta kullanılan bir testtir.

Farelerde peritoneal damar permeabilite artışı testi: Antiinflamatuvar etkinliği olduğu varsayılan madde tarafından inflamasyona bağlı damar permeabilitesi artışının ve inflamasyonlu bölgeye makrofaj göçünün ne derecede inhibe edildiğini araştırmaya yönelik bir testtir.

Sıçanlarda karagenin'le oluşturulmuş plörezi testi: Sıçanlara 3. veya 5. interkostal aralıktan karagenin solüsyonu enjekte edilerek burada İnflamasyon oluşturulması ve bu inflamasyon sonucu intraplevral aralığa göçen yangı hücrelerinin çalışma sonrası alınan plevral sıvıda sayılması esasına dayanır.

Sıçanlarda siklofosfamidle oluşturulmuş hemorajik sistit testi: İntraperitoneal yolla sıçanlara 100 mg/kg dozda siklofosfamid verilerek mesane ödemi ve buradaki damar yataklarının permeabilite artışı esasına dayanır. Yaklaşık iki gün süren bir testtir<sup>78</sup>.

Kabak testi: Az kullanılan bir testtir. Anestezi altında sıçanların böbreküstü bezleri iki taraflı olarak çıkarılır (bilateral sürrenalektomi). Operasyondan 18 gün sonra sıçanlarda inflamasyon yapıcı bir ajanla pençe ödemi oluşturma yöntemi kullanılarak antiinflamatuvar etkinlik ölçülür<sup>81</sup>.



### 2.5.2. Kronik İnflamasyon Testleri

Pamuk-pellet aracılığıyla granülom oluşturulması testi: Kronik inflamasyon'da sık kullanılan ve tercih edilen bir testtir. Deney, yaklaşık sekiz gün sürmektedir. Sterilize edilmiş pamuk-pellet, deney hayvanının deri altı dokusuna yerleştirilerek bir hafta sonra dikkatle çıkarılır ve cotton-pellet ile etrafında oluşmuş granülom dokusu birlikte 70-100°C'de kurutularak tartılır. Tüm çalışma gruplarında pamuk-pelletlerin ağırlıkları karşılaştırılarak değerlendirme yapılır<sup>81</sup>.

### 2.5.3. Antiinflamatuvar Etkinin Ölçümü İçin Kullanılan Cihazlar

Basınç transdüseri ile ölçüm<sup>71</sup>: 1960'lı yıllarda kullanılan bir yöntemdir. Sıçan pençesi, lateral malleolusun üzerinden mürekkeple işaretlenip, civa içerisine tamamen daldırılır. Civa 60 mm derinlikte, 25 mm çaptaki bir cam silindirde bulundurulur. Civa sütunu basınç transdüserine bağlıdır. Transdüser çıktısı bir galvanometre aracılığıyla volüm değişikliğini gösterir.

Pletismometre (pletismograf) aracılığıyla ölçüm: Pençe volümünü ölçmek amacıyla kullanılan en modern cihazdır ve Ugo Basile markalı pletismometreler oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu cihazlarla yapılan ölçümlerde % 4'lük hata olasılığı ihmal edilebilir olarak değerlendirilmektedir. Deney hayvanının sağ arka pençesi antiinflamatuvar etkinlik için, sol arka pençesi ise kontrol amacıyla ölçülür (Resim 1)<sup>81</sup>.



**Resim 1. Pletismometre ile pençe ödemi ölçüm.**

Kulak kepçesi volümünün ölçülmesi: Kulak kepçesi kalınlığı bir “Oditest calipers” cihazı aracılığı ile 0.01 mm birim uzunlukta ölçülerek yapılır. Çalışma öncesi ve çalışma sonrası sağ ve sol kulak kalınlıkları bu cihazla ölçülerek birbirinden çıkarılır ve oluşan ödem volümü hesaplanır<sup>81</sup>.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Deney Hayvanları**

Deneylerde Ankara Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezin'den temin edilen 200-300 g ağırlığında, Wistar, albino dişi sıçanlar kullanılmıştır.

Deney hayvanları deneye alınmadan en az bir hafta önce sıcaklığın (20-24°C), nemin (%55±10) ve aydınlık periyodunun (12'şer saat aydınlık ve karanlık) ayarlandığı odalarda tutularak senkronize edilmiştir. Deney boyunca sıçanlar standart pellet diyet ve su ile serbest olarak beslenmiştir.

Deneylerde kullanılan hayvanlar, deney süresince Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İzin No: 2011-122-476) ve gözlemi altında, laboratuvar hayvanlarını korumaya yönelik uluslararası etik kurallar kılavuzuna uygun olarak barındırılmış ve deney protokolleri uygulanmıştır.

### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

#### 3.1.2.1. Antienflamatuar Aktivite Tayininde Kullanılmak Üzere Alınan Maddeler

Karagenin (Carrageenan,  $\lambda$ , Tip I, St. Louis, MO, ABD)

Kapasicum oleoresin içeren yakılar (Şanlı İlaç Sanayii, Türkiye)

Kapsaisin (Sigma ürün numarası: 21750; LOT: 1437650 (%50.5 kapsaisin, %38.1 dihidrokapsaisin))

Serum fizyolojik (SF) (% 0.9 NaCl) (Haver, Türkiye)

Çözücü (%80 fizyolojik tuzlu su, %10 tween 80, %10 etanol)

Diklofenak (Deva İlaç Şirketi, Türkiye, Dikloron),

Formamid (Flucka, İsviçre)

#### 3.1.3. Araç ve Gereçler

Hassas terazi

Vorteks

Ultrasonik banyo

Pletismometre Ugo basile 7140

Hamilton Enjektör (50 $\mu$ l)

Tek uçlu ve depolu otomatik pipetler

Pipet uçları

Zaman ölçer

Parafilm

Steril enjektör (1, 2, 5, 10 ve 20 ml)

İnsülin enjektörü

Balonjoje (50 ml), Erlen (50 ml), Cam tüp (10 ml)

Mezür

Aliminyum folyo

Plastik eldiven

Makas

Otoklav

Terazi

Spektrofotometre

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Deney Grupları**

Deneylerde kullanılan hayvanlar 10 gruba ayrılmıştır. Tüm deney gruplarında kullanılan hayvan sayısı 10-17'dir.

#### **3.2.2. Pençe Ödemi Yöntemi**

Antiinflamatuvar aktivitenin belirlenebilmesi için fizyolojik tuzlu su (SF)'de çözülmüş  $\lambda$  tip 1 karragenin (%1 a/h) ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır. Her sıçanın sağ pençesine intraplantar olarak fizyolojik tuzlu su içerisinde taze hazırlanan karagenin süspansiyonu (1mg/0.01ml/pençe) enjekte edilmiştir. Her sıçanın kendi

kontrolü için sol arka pençesine intraplantar olarak aynı hacimde (0,01ml/pençe) SF enjekte edilmiştir. Sağ ve sol pençe arasındaki hacim farkı “ödem” olarak alınmıştır.

Yakı ve Yakı+Diklofenak gruplarında bulunan sıçanların sağ arka pençelerine kapsikum oleoresin içeren 1.2 cm çapında dairesel yakılar uygulanmıştır. Yakıların toplam kapsaisin içeriği yaklaşık olarak 20 µg olacak şekilde ayarlanmıştır. Kontrol grubu iki farklı gruba ayrılmıştır. İlk grup “yakı”, “yakı + diklofenak” ve “diklofenak” grupları için ayrılırken ikinci grup “diklofenak” enjeksiyonu ile birlikte veya diklofenak enjeksiyonu olmadan “kapsaisin” enjekte edilen grupları içermektedir. Diklofenak grubundaki ve birinci kontrol grubundaki sıçanların sağ ve sol arka pençelerine ve ayrıca “yakı” ve “yakı + diklofenak” gruplarında bulunan sıçanların sol arka pençelerine ilaç içeriği bulunmayan yakılar uygulanmıştır. Yakılar karajenin enjeksiyonundan hemen sonra uygulanmıştır.

Kapsaisin konsantrasyonu 20 µl’de 2, 10 ve 20 µg olacak şekilde %80 SF, %10 etanol ve %10 tween 80 karışımında çözülmüştür. Gruplardaki sıçanların sağ arka pençelerine, bunlara uyan dozlar enjekte edilmiştir: Kapsaisin 20 µg, Kapsaisin 20 µg + diklofenak, Kapsaisin 10 µg, Kapsaisin 10 µg + diklofenak, Kapsaisin 2 µg ve Kapsaisin 2µg + diklofenak. Kapsaisin enjekte edilen grupların sol arka pençelerine aynı hacimde %80 SF, %10 etanol ve %10 tween 80 içeren çözücü solüsyon enjekte edilmiştir. Kapsaisin ve çözücü karajenin enjeksiyonundan hemen sonra uygulanmıştır.

Diklofenak 2, 4, 6, 8 ve 10 nolu gruplardaki sıçanların sol uyluklarına 3 mg/kg dozda intramuskuler olarak 90. dakikada enjekte edilmiştir.

#### Hayvan Grupları:

- 1) Kontrol
- 2) Diklofenak
- 3) Yakı
- 4) Yakı+diklofenak
- 5) Kapsaisin 20 µg
- 6) Kapsaisin 20 µg+diklofenak
- 7) Kapsaisin 10 µg
- 8) Kapsaisin 10 µg+diklofenak
- 9) Kapsaisin 2 µg
- 10) Kapsaisin 2 µg+diklofenak

Pençe hacimleri pletismometre kullanılarak ölçülmüştür. Bütün gruplarda her iki pençe hacmi karagenin enjeksiyonundan sonra 0, 180, 270 ve 360. dakikalarda ölçülmüştür. Yakı uygulanmışsa ölçümden önce çıkartılmış ve ölçüm sonrasında pençe kurulandıktan sonra tekrar uygulanmıştır. Sağ ve sol pençe hacimleri arasındaki fark, pençe ödem hacmi olarak kabul edilmiştir.

#### 3.2.3. İnflamatuvar Yanıt Değerlendirme Yöntemi

İnflamatuvar yanıt değerlendirmesi plazma ekstravazasyonu, modifikasyonlarla birlikte açıklandığı gibi Evans mavisi yöntemi

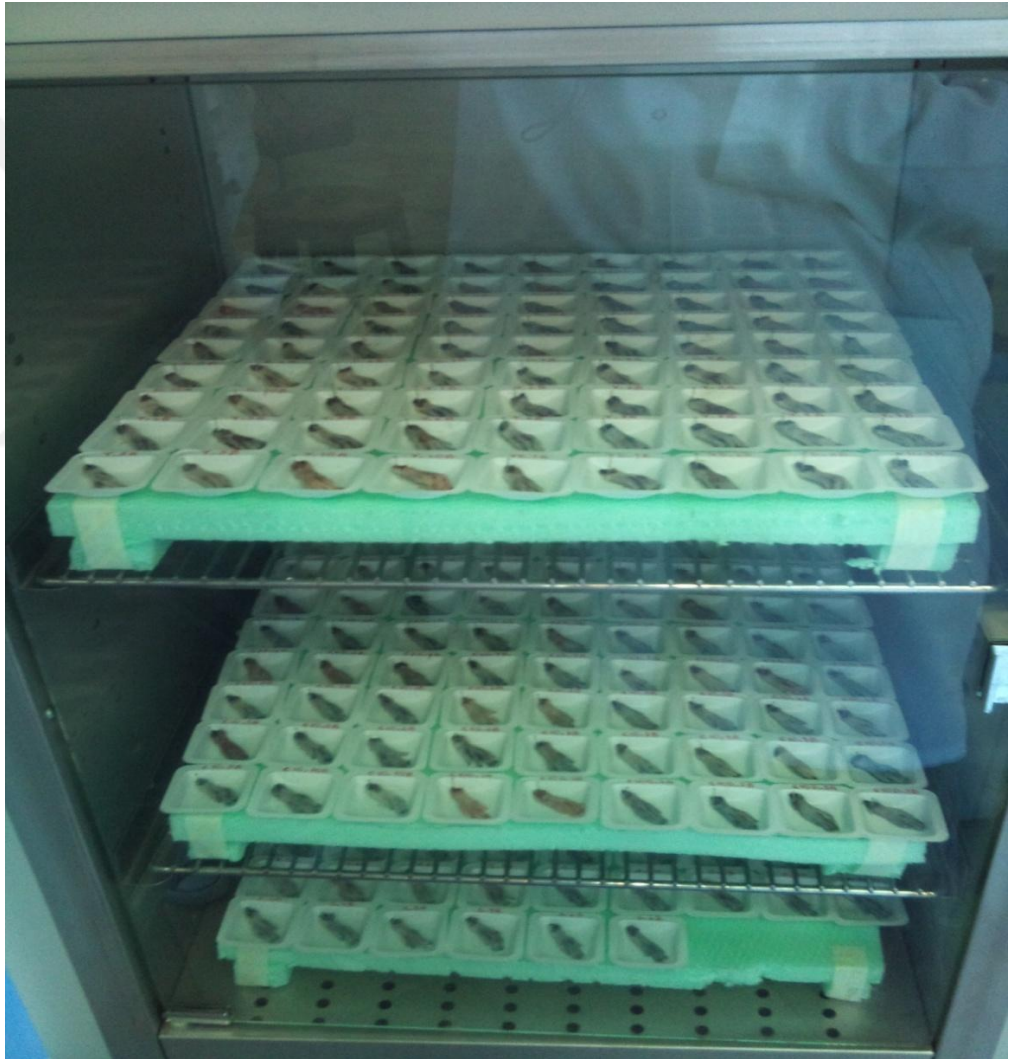
kullanılarak ölçülmüştür<sup>83</sup>. Kısaca özetlemek gerekirse, sıçanlara intraperitoneal ketamin (80 mg/kg) ve ksilasazin (10 mg/kg) enjeksiyonu ile anestezi uygulanmıştır. 345. dakikada intrakardiyak enjeksiyon yoluyla 60 mg/kg dozda Evan mavisi boyası enjekte edilmiştir. 360. dakikada yapılan pençe hacmi ölçümlerinden sonra sol karotid arteri kesilerek sıçanlar öldürülmüştür. Sıçanların iki arka pençe bilek eklemi hizasından kesilmiştir. Daha sonra, yaş ağırlıkların belirlenmesi için pençeler hemen tartılmıştır. Plasma ekstravazyonunun tayini için pençelerin palmar ve plantar yüzüne 4 adet tam inter metakarpal insizyon yapılarak, ayrı ayrı kaplara konulmuştur (Resim 2).



**Resim 2. Sıçan pençeleri**



Pençeler 48 saat boyunca 56°C'de otoklavda inkübe edilerek kurutulmuş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi için tekrar tartılmıştır. Tek bir pençenin yaş ve kuru ağırlığı arasındaki fark o pençenin sıvı kitlesi olarak kabul edilmiş ve sağ ve sol pençelerin sıvı kitleleri arasındaki fark da pençe ödemi ağırlığı olarak kabul edilmiştir.



**Resim 3. Pençelerin otoklavda kurutulması**

Pençeler, dokuya geçen boyanın çıkarılması amacıyla 48 saat süreyle 56°C'de formamid içinde bekletilmiştir. Formamide geçen boyanın absorbansı 620 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Evans mavisi derişimini belirlemek için 128-64-32-16-8-4-2-1 µg/ml standartları hazırlanarak absorbans standart eğrisi elde edilmiştir. Formamid içindeki bilinen Evans mavisi derişimlerinden elde edilen standart bir absorbans eğrisi kullanılarak doku derişimi hesaplanmıştır. Sonuçlar, pençenin kuru dokusunda µg/Evans mavisi/mg kuru pençe ağırlığı cinsinden ifade edilmiştir.

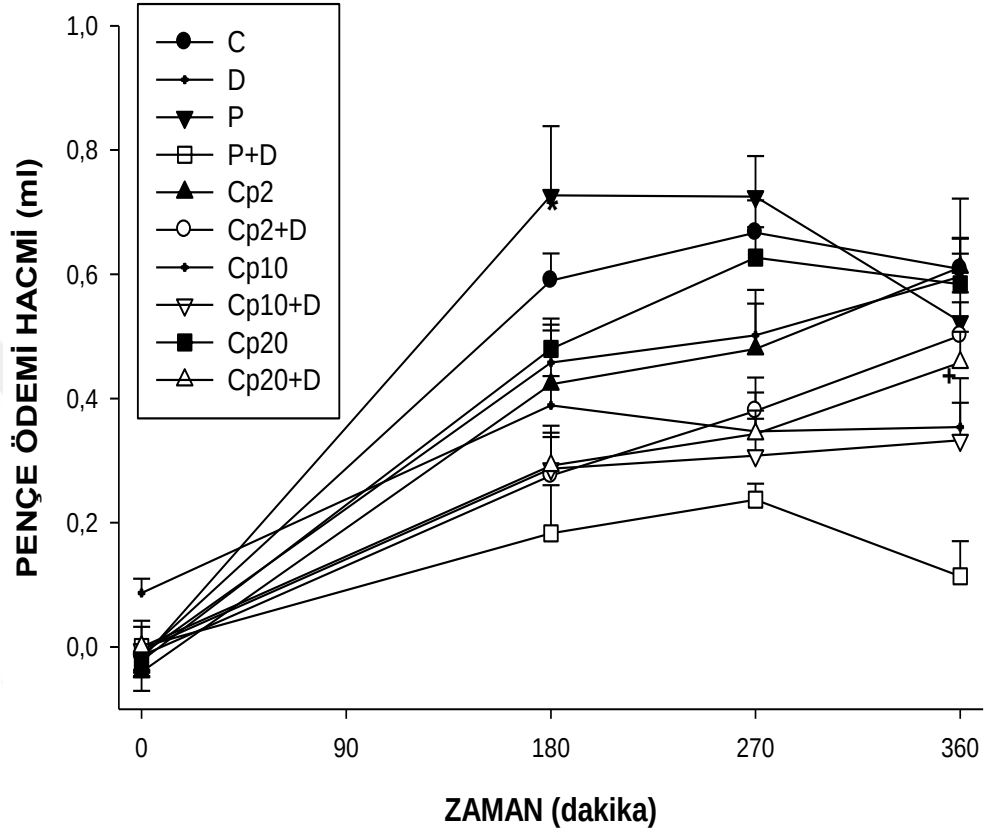
### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Veriler aritmetik ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir. İstatistiksel değerlendirme SigmaPlot programı (Systat Software Inc., San Jose, CA, ABD) 11. versiyonu kullanılarak yapılmıştır. Pençe ödeminin zaman içindeki seyri, tekrarlanan ölçümler için 2 yönlü tekrarlayan varyans analizi (Two-way Repeated ANOVA) kullanılarak karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanırsa Holm-Sidak testi uygulanarak ileri karşılaştırmalar yapılmıştır. Pençe ödemi ağırlığı ve Evans mavisi içeriği, Student t testi kullanılarak kontrolle karşılaştırılmıştır. İstatistiksel önemlilik düzeyi  $p<0.05$  olarak seçilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Deneylerin başlangıcında ölçülen sıçan ağırlıkları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Karagenin enjeksiyonundan hemen sonra (0. dakikada) hesaplanan pençe ödemi gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Deney süresince karagenin enjeksiyonundan sonra 0, 180, 270 ve 360. dakikalarda oluşan pençe ödemleri ölçülmüş, 270. Dakikadan sonra ödem oluşumunun daha fazla artış göstermediği tesbit edilmiştir. Bütün gruplarda oluşan pençe ödeminin zamansal değişiklikleri şekil 6'da gösterilmiştir.

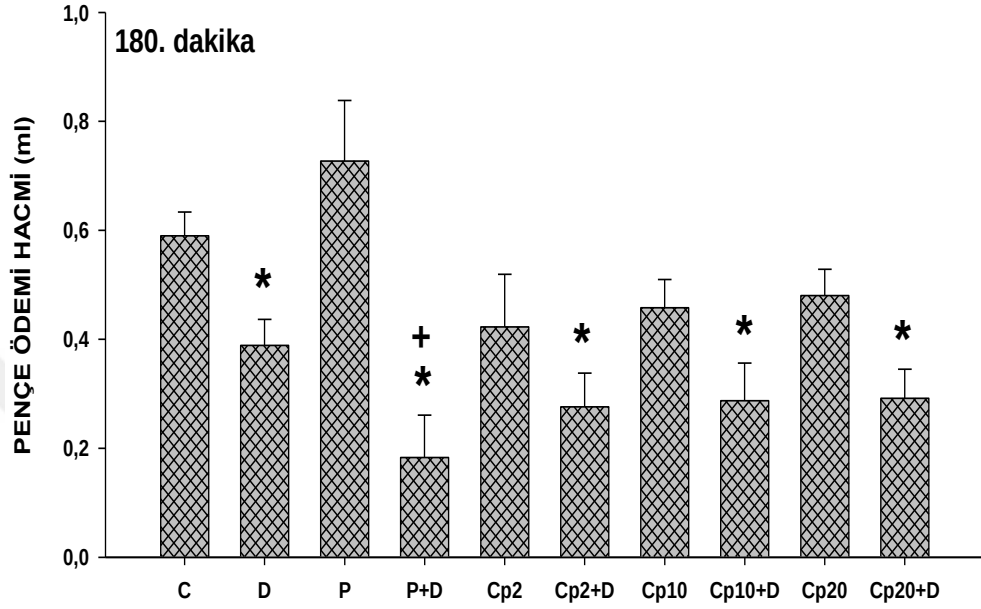


**Şekil 6. Diklofenak, yakı ve kapsaisinın sıçanlarda karagenin ile indüklenen pençe ödemi üzerine etkilerinin zamansal değişimi.** Yakı uygulaması pençe ödemi üzerinde diklofenakın oluşturduğu azaltıcı etkiyi artırmıştır. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2 µg, Kap10: Kapsaisin 10 µg, Kap20: Kapsaisin 20 µg. Sonuçlar ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir (n=10-17).

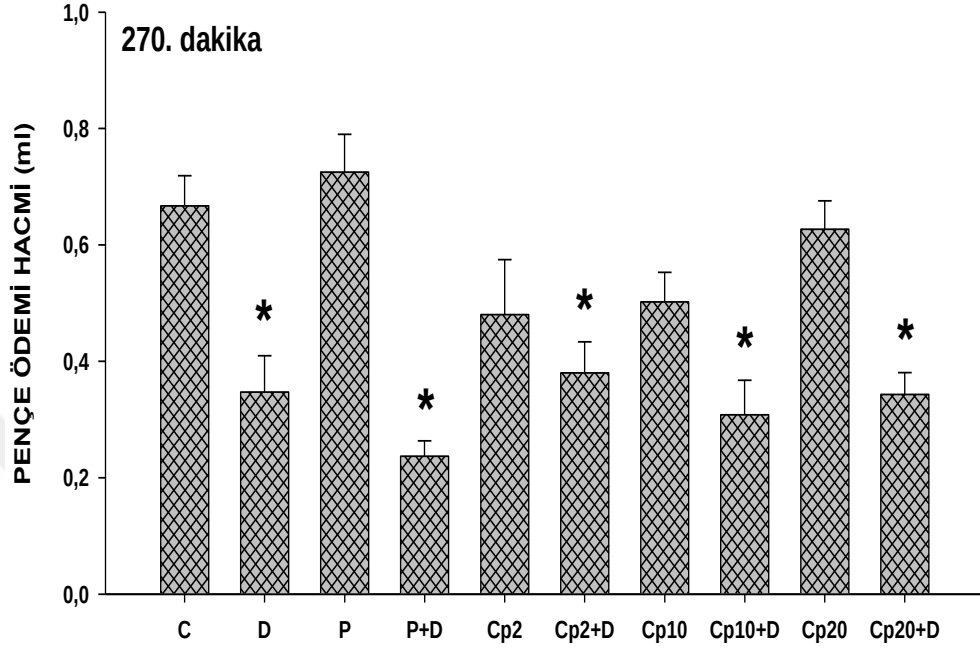
Tek başına uygulanan diklofenak 180. dakikada (kontrol  $0.59\pm0.04$  ml, diklofenak  $0.39\pm0.05$  ml) ve 270.dakikada (kontrol  $0.67\pm0.05$  ml, diklofenak  $0.35\pm0.06$  ml) pençe ödemi hacmini anlamlı bir şekilde azaltmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 7, 8). Ancak, 360. dakikada tek başına diklofenakın pençe ödemi üzerine azaltıcı etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Şekil 9).

Diklofenak ile kapsaisinoid içeren yakı birlikte uygulandığında pençe ödemi hacimlerinde; 180. dakikada (yakı+diklofenak  $0.18\pm0.08$  ml, tek başına diklofenak  $0.39\pm0.05$  ml) ve 360. dakikada (yakı+diklofenak  $0.11\pm0.06$  ml, tek başına diklofenak  $0.35\pm0.08$  ml) diklofenak grubuna göre daha fazla bir azalma göstermiştir ( $p<0.05$ ) (Şekil 7,9).

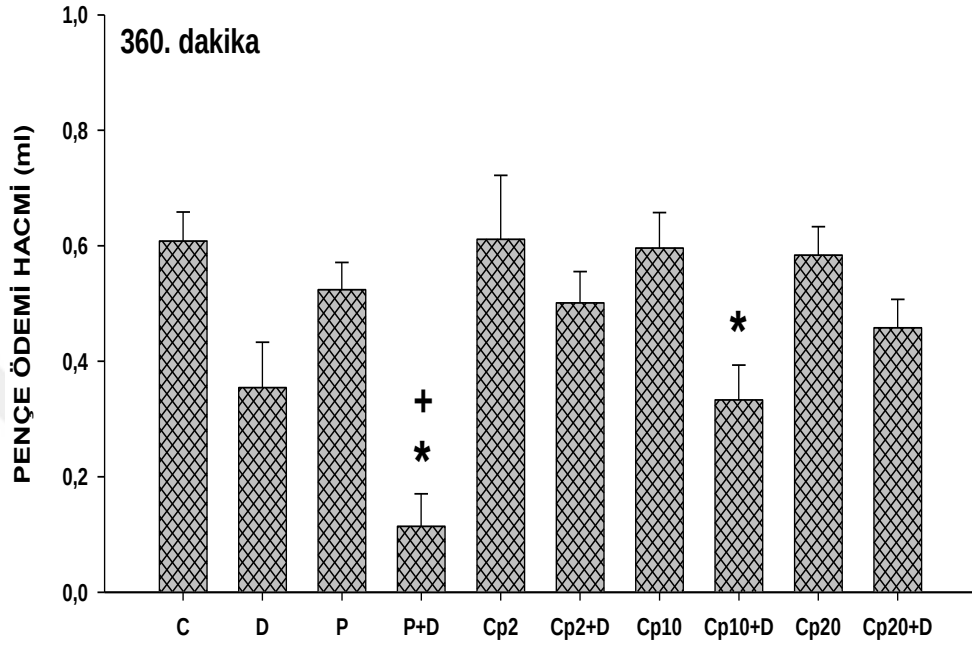
Diklofenak'ın farklı kapsaisin dozlarıyla kombinasyonu da ödem oluşumunun inhibisyonuna sebep olmuştur, ancak bu inhibisyon, tek başına diklofenak ile ortaya çıkan ödem inhibisyonundan anlamlı farklı değildir. Diklofenak olmadan yakı veya kapsaisin uygulamaları (2  $\mu$ g, 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g) deney tüm zamanlarında ödem oluşumunu etkilememiştir ( $p>0.05$ ) (Şekil 7, 8, 9).



**Şekil 7. Diklofenak, yakı ve kapsaisin karagenin enjeksiyondan 180 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri.** Tek başına diklofenak pençe ödemi oluşumunu anlamlı olarak azaltmıştır. Yakı+diklofenak grubunda diklofenak grubunda olduğundan anlamlı bir şekilde daha az ödem vardı. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2 µg, Kap10: Kapsaisin 10 µg, Kap20: Kapsaisin 20 µg. \*Kontrolden farklı, +diklofenaktan farklı (p<0.05). Sonuçlar ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir (n=10-17).



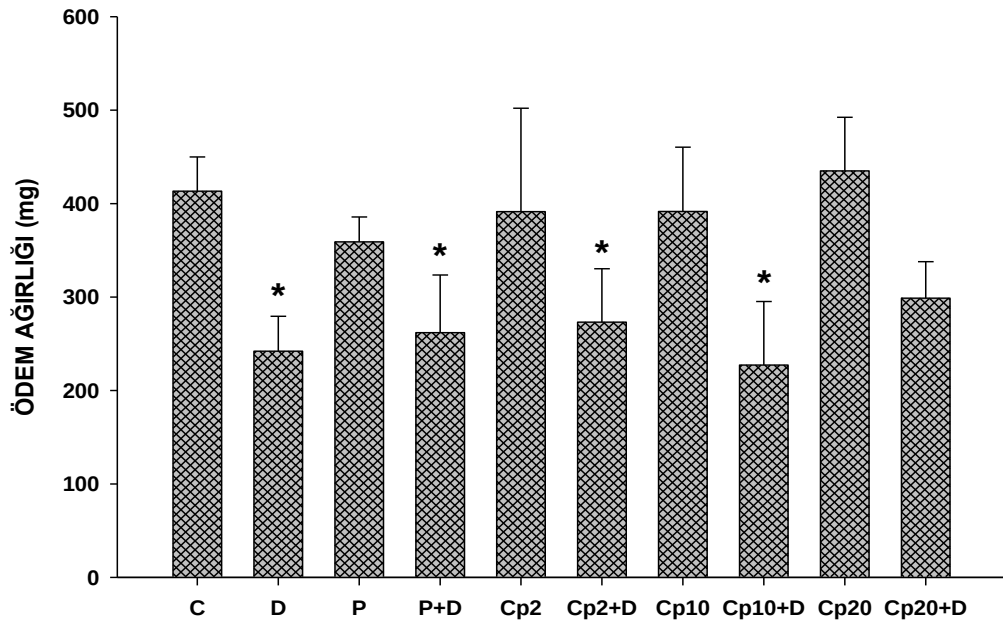
**Şekil 8. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin enjeksiyondan 270 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri.** Tek başına diklofenak pençe ödemi oluşumunu anlamlı olarak azaltmıştır. Yakı+diklofenak grubunda diklofenak grubunda olduğundan anlamlı bir şekilde daha az ödem vardı. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2 µg, Kap10: Kapsaisin 10 µg, Kap20: Kapsaisin 20 µg. \*Kontrolde farklı, +diklofenaktan farklı (p<0.05). Sonuçlar ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir (n=10-17).



**Şekil 9. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin enjeksiyondan 360 dakika sonra oluşan sıçan pençe ödemi üzerine etkileri.** Yakı+diklofenak grubunda diklofenak grubunda olduğundan anlamlı bir şekilde daha az ödem vardı. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2 µg, Kap10: Kapsaisin 10 µg, Kap20: Kapsaisin 20 µg. \*Kontrolde farklı, +diklofenaktan farklı (p<0.05). Sonuçlar ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir (n=10-17).



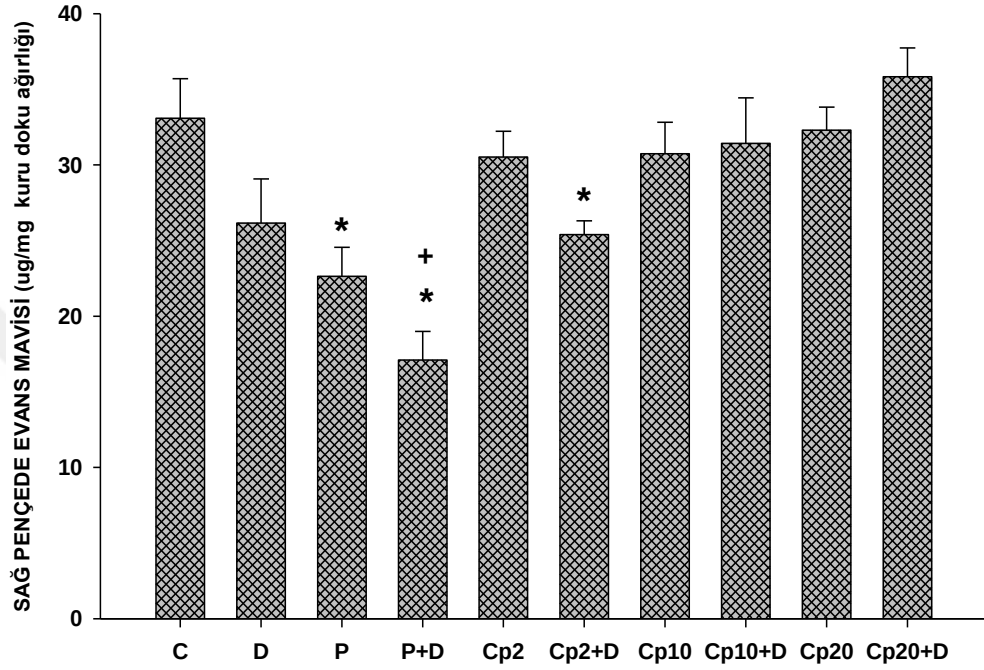
Diklofenak uygulaması pençe ödem ağırlığını anlamlı şekilde azaltmıştır (kontrol;  $413.24 \pm 36.50$  mg, diklofenak;  $242.00 \pm 37.36$  mg). Aynı şekilde yakı+diklofenak ( $261.8 \pm 61.74$  mg), kapsaisin 2  $\mu\text{g}$ +diklofenak ( $273.0 \pm 57.10$  mg) ve kapsaisin10  $\mu\text{g}$ +diklofenak ( $227.2 \pm 67.96$  mg) gruplarında da kontrol grubunda olduğundan anlamlı bir şekilde daha az ödem ağırlığı vardı ( $p < 0.05$ ). Ancak bu grupların ödem ağırlığı üzerine azaltıcı etkileri tek başına diklofenakin azaltıcı etkisinden farklı değildi. Diğer grupların ödem ağırlığı üzerine etkileri kontrol grubundan farklı değildi (Şekil 10).



**Şekil 10. Diklofenak, yakı ve kapsaisinin karagenin ile indüklenen sıçan pençe ödemi ağırlığı üzerine etkileri.** Diklofenak tek başına ve yakı yada kapsaisin (2, 10  $\mu\text{g}$ ) ile kombinasyonları pençe ödem ağırlıklarını anlamlı şekilde azaltmıştır. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2  $\mu\text{g}$ , Kap10: Kapsaisin 10  $\mu\text{g}$ , Kap20: Kapsaisin 20  $\mu\text{g}$ . \*Kontrolden farklı ( $p < 0.05$ ). Sonuçlar ortalama $\pm$ OSH şeklinde ifade edilmiştir, ( $n=9-17$ ).

Evans mavisı molekölü çok yüksek bir afiniteyle albümine bağlanır. Bu yüzden, Evans mavisinin konsantrasyonu doku albümin içeriğı ile yüksek düzeyde korelasyon gösterir. Vasküler permeabilitenin artmasıyla doku albümin içeriğı artar. Dolayısıyla Evans mavisı derişimi, plazma ekstravazasyonunun bir göstergesidir<sup>83</sup>. Bu çalışmada Evans mavisinin intrakardiyak verildikten 15 dakika sonra ölçülen doku konsantrasyonu plazma ekstravazasyonu indeksi olarak gösterilmiştir.

Yakı ( $22.64 \pm 1.91$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ), yakı+diklofenak ( $17.10 \pm 1.89$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) ve kapsaisin 2  $\mu\text{g}$ +diklofenak ( $25.39 \pm 0.90$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) gruplarının inflamasyonlu sağ pençelerdeki Evans mavisı içeriğı kontrol grubundakinden ( $33.08 \pm 2.62$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) anlamlı olarak daha düşüktü. Yakı+diklofenak grubunda da tek başına diklofenak grubunda olduğundan ( $26.16 \pm 2.91$   $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) daha az Evans mavisı vardı. Kontrol grubu ile diklofenak, kapsaisin 2  $\mu\text{g}$ , kapsaisin 10  $\mu\text{g}$ , kapsaisin 10  $\mu\text{g}$ +diklofenak, kapsaisin 20  $\mu\text{g}$  ve kapsaisin 20  $\mu\text{g}$ +diklofenak grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamaktaydı (Şekil 11).



**Şekil 11. İnflamasyonlu sağ pençenin doku Evans mavisi içeriği üzerine diklofenak, yakı ve kapsaisin etkileri.** Tek başına diklofenak doku Evans mavisi içeriği üzerine etkisiz bulunurken, yakı, yakı+diklofenak ve kapsaisin 2 µg+diklofenak uygulamaları pençelerde doku Evans mavisi içeriklerini anlamlı şekilde azaltmıştır. Dik: Diklofenak, Kap2: Kapsaisin 2 µg, Kap10: Kapsaisin 10 µg, Kap20: Kapsaisin 20 µg. \*Kontrolde farklı, +Diklofenaktan farklı ( $p<0.05$ ). Sonuçlar ortalama±OSH şeklinde ifade edilmiştir, (n=6-16).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonuçları, sıçanların karagenan ile indüklenen pençe ödeminde diklofenakın antiinflamatuvar etkisinin lokal kapsaisin enjeksiyonuyla değil topikal kapsaisinoid uygulamalarıyla anlamlı bir şekilde arttığını göstermektedir.

İnflamasyon temel olarak mikroplar, toksinler ve travma gibi hasarları geçirecek ve dokuları bu tür hasarlardan koruyacak şekilde dizayn edilmiş olan koruyucu bir yanıttır. Bu mekanizma, normal dokularda incinme oluşturabilme özelliğine sahip yabancı istilacıları ve nekrotik dokuları parçalayacak şekildedir. İnflamasyon esnasında histamin, serotonin, kinin peptitleri, PG'ler, lökotrienler, platelet aktive edici faktör, reaktif oksijen grupları, nitrik oksit, kemokinler ve sitokinler gibi çok çeşitli mediyatörler açığa çıkar<sup>25</sup>. Uygun bir şekilde yönlendirilmemiş veya kontrol altına alınmamış olan inflamasyon hastalığa sebep olur ve tedavi genellikle, inflamatuvar reaksiyonlara aracılık eden maddelerin sentezinin ve etkilerinin inhibisyonunu hedefler. NSAİİ'ler en sık şekilde kullanılan ilaçlardır<sup>1</sup>. Ancak ciddi yan etkileri terapötik etkinliklerini kısıtlamıştır<sup>2</sup>. Özellikle bazı kas-iskelet bozukluklarında, inflamasyonlu dokudaki düşük dolaşım sebebiyle terapötik fayda geri planda kalmakta ve yüksek dozlar ve uzun uygulama süreleri gerekmektedir. Bu ilaçların topikal bir şekilde uygulanması, yan etkilerden sakınma yöntemlerinden biridir. Diğer taraftan, topikal NSAİİ uygulamasının da korele edilmemiş doku ve sistemik konsantrasyon, ciltteki yan etkiler ve etkinlik açısından bireysel farklılıklar gibi çeşitli terapötik sorunlarının bulunduğu bildirilmiştir<sup>3</sup>. Tüm bu sorunlardan dolayı, lokal kas-iskelet inflamasyonunun tedavisi daha fazla yaklaşım gerektirmektedir.

Dokularda karagenin'le indüklenen inflamasyon inflamatuvar hastalıkların patogenezi ve terapötik yaklaşımını incelemek için deneysel bir model olarak kullanılır<sup>17,18,19</sup>. İntraplantar karagenin enjeksiyonu, genellikle 3 fazının olduğu kabul edilen inflamatuvar bir ödeme sebep olur. İlk faza histamin ve serotonin aracılık eder. Bunu izleyen ikinci faz kinin aracılı bir fazdır. Üçüncü faza, lokal PG üretimi aracılık eder. İlk iki faz birkaç saat sürer ve üçüncü faz da 2 ila 3 saat sürer. Ayrıca, bazı inflamasyon mediyatörlerinin inflamasyonun nörojenik komponentlerini tetikleyen sensoriyel/duyusal nöronları aktive ettikleri bilinmektedir. Bu yüzden, karagenin ile indüklenen pençe ödemi inflamasyonun hem nörojenik hem de non-nörojenik fraksiyonlarına sahiptir<sup>8,9,11</sup>. NSAİİ'ler COX enzimlerinin inhibisyonuna bağlı olarak prostanoid üretimini azaltırlar ve inflamasyonu etkili bir şekilde etkileyebilirler<sup>1,84</sup>. Diklofenak bu hayvan modelinde diğer tedavi modalitelerinin antiinflamatuvar etkisini değerlendirmek için sıklıkla referans bir ilaç olarak kullanılmaktadır<sup>21</sup>. Bizim çalışmamızda diklofenak karagenan enjeksiyonundan 90 dakika sonra enjekte edilmiştir. Bu, anlamlı bir terapötik yaklaşım zamanlamasıdır. Diklofenak uygulamasından sonra pençe ödemi hacmi 180 ve 270. dakikalarda azalma göstermiştir. Ödem hacminin ve doku Evans mavisi içeriğinin 360. dakikada diklofenak tarafından ciddi bir şekilde etkilenmemesine rağmen azalmış ödem ağırlığı kaydedilmiştir.

Acı biberler kapsaisin, dihidrokapsaisin, nordihidro-kapsaisin, homokapsaisin ve homodihidro-kapsaisin gibi çeşitli kapsaisinoidler içerir. Ancak kapsaisinoidlerdeki en önemli acı madde kapsaisindir<sup>4,5,6</sup>. Kapsaisin'in analjezi, antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan, antiobezite gibi çeşitli farmakolojik etkilerinin olduğu açıklanmıştır<sup>5</sup>. Topikal kapsaisin uygulaması osteoartrit, postherpetik nevralji, romatoid artrit, mastektomi sonrası ağrı sendromu ve diyabetik nöropati gibi çeşitli kronik ağrı

hastalıklarda analjezik olarak onaylanmıştır<sup>11,12,13</sup>. Topikal kapsaisin uygulaması başlangıçta ağrıya sebep olur ancak tekrarlanan, uzun süreli veya yüksek doz uygulamalar nöronal desensitizasyonu indükler ve sinyal iletimini önleyerek ağrıyı sonlandırır<sup>8,9,10</sup>. Ayrıca, kapsaisin ile tetiklenen inflamasyon ve antiinflamasyon da bildirilmiştir<sup>14,15,16,17</sup>. Diğer taraftan, reçetesiz satılan kapsaisinoid içeren yakılar kas-iskelet ağrısının tedavisinde tamamlayıcı bir terapötik olarak kullanılırlar.

Bu tez çalışmasında, uygulanan yakıların kapsaisin içeriği 20 µg ve sıçan cildinde topikal kapsaisin'in biyoyararlanımı ile ilgili veriler bulunmamaktaydı. Bu yüzden, bu kapsaisin dozu veya daha düşük olan dozlar seçilmiştir. Diklofenaksız lokal subkutan kapsaisin enjeksiyonları her ne kadar sıçan pençesinde ödem hacmini, ağırlığını ve plazma ekstrasvazasyonunu etkilememiş olsa da bu çalışmada tek bir topikal kapsaisin uygulaması dokulardaki Evans mavisi içeriğini azaltmıştır. Yukarıda da bahsedildiği gibi, daha önceki çalışmalarda kapsaisinin inflamasyon üzerindeki farklı etkileri bildirilmiştir ancak bu çalışmalardaki deney protokolleri ve modelleri bizim çalışmamızdakinden tamamen farklı olmuştur. Farklı dozlar, zamanlamalar, uygulamalar ve modeller kullanıldığı için verilerin karşılaştırmak ve kapsaisin etkisinin doğasını anlayabilmek oldukça zordur. Farklı deneysel modellerde kapsaisinin inflamasyon üzerindeki doza ve zamana bağımlı etkilerini aydınlatmak için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

NSAİ'lerin ve kapsaisin içeren preparatların inflamasyonda kullanılmalarına rağmen, NSAİ'lerin kapsaisin ile olan etkileşimleri incelenmemiştir. Bu çalışmada, diklofenakın lokal kapsaisin enjeksiyonu ile kombinasyonu karajenin ile indüklenen inflamasyon üzerinde tek

başına uygulanan diklofenaktan farklı bir etki göstermemiştir. Diğer taraftan, topikal kapsaisinoid içeren yakılar diklofenakın antiinflamatuvar etkisini anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Mevcut çalışmamız, sıçan pençe ödemi inflamasyon modellerinde diklofenakın inflamasyon üzerindeki etkisinin lokal kapsaisin uygulamasıyla değil ama topikal kapsaisinoid içeren yakıyla güçlendirildiğini ilk kez göstermiştir. Kapsaisinoid içeren yakılar A ve C vitamini, lutein, likopen,  $\beta$ -kriptozantin,  $\beta$ -karoten, kuersetin (quercetin), kateşin (catechin), vanilin ve gallik, protokasetik (protocasetik), ferulik, kumarik, sinapinik, kafeik asitler gibi çeşitli aktif karotenoidleri ve fenolik bileşikler içerir<sup>50,85</sup>. Bu içeriklerin çoğu antiinflamatuvar etkiye sebep olan anti-oksidan özellikler sergileyebilirler<sup>86,87</sup>. Bu yüzden, topikal kapsaisinoid içeren yakıların NSAİİ'lerin antiinflamatuvar etkileri üzerindeki yararlı etkilerinin kırmızı biberde bulunan başka bir aktif maddeye veya maddelere bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Bu hipotez, biber suyunun antiinflamatuvar etkisini bildiren bir çalışma ile desteklenmiştir<sup>55</sup>. Ancak kapsaisin içeren yakılar ile diklofenak arasındaki sinerjinin ardında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Tüm bu sonuçlar, kapsaisinoid içeren yakıların karagenin ile indüklenen pençe ödeminde diklofenakın antiinflamatuvar etkilerini güçlendirdiğini ve yararlı etkisinin, yakıda bulunan diğer aktif kırmızı biber maddeleriyle ilişkili olabileceğini göstermektedir. Aktif maddelerin ve moleküler etkileşim mekanizmasının belirlenmesi, lokalize inflamasyonun NSAİİ'lerle yan etkiler olmadan etkili bir şekilde tedavi edilmesi için yeni stratejilerin geliştirilmesine yol açabilir.

## 6. SONUÇ

Tek başına verilen diklofenak, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında pençe ödemi hacmini anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Tek başına kapsaisinoid enjeksiyonu veya yakı uygulaması pençe ödemi üzerinde bir etkiye sebep olmamıştır. Diklofenak ve yakı kombinasyonu, kontrol ve tek başına diklofenak ile karşılaştırıldığında daha az ödem hacmi ile sonuçlanmıştır. Pençe ödemi ağırlığı ayrıca, tek başına diklofenak ile veya yakı ya da kapsaisinoid enjeksiyon ile kombine edilen diklofenak ile de azalmıştır ancak kapsaisinoidlerin uygulanması herhangi bir ek yararlı etkiye neden olmamıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, yakı içeren topikal kapsaisinoid uygulamalarının diklofenakın antiinflamatuvar etkisini arttırdığını ve yararlı etkisinin sadece kapsaisin içeriği ile ilgili olmayabileceğini düşündürmektedir. Lokal inflamatuvar bozuklukların tedavisinde NSAİİ ile yakı içeren topikal kapsaisinoidlerin kombinasyonu ilacın antiinflamatuvar etkinliğini sistemik yan etkiler olmadan arttırabilmiştir. Bu kombinasyon, lokal inflamatuvar hastalıklarda etkili bir tedavi protokolü olabilir.



## 7. ÖZET

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİ'ler) kas iskelet bozukluklarında en çok kullanılan ilaçlardandır ancak sistemik advers etkileri lokal inflamasyondaki terapötik yararlarını kısıtlar. Topikal kapsaisinoid preparatları kas-iskelet bozuklukları için tamamlayıcı bir tedavi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, yakı da dahil olmak üzere topikal kapsaisinoidlerin ve lokal subkutan kapsaisin uygulamasının NSAİ'lerin antiinflamatuvar etkisi üzerindeki etkisi incelenmiştir.

İnflamasyon modelinde, sıçanların karagenin ile indüklenen pençe ödemi kullanılmıştır. Karagenin enjeksiyonundan sonra, pençe ödemi hacmi ve ağırlığı ve pençenin plazma ekstrasvazasyonu belirlenmiştir.

Bir NSAİ olan diklofenak'ın sistemik uygulanması (3 mg/kg) pençe ödeminin hacmini ve ağırlığını anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Yakı uygulamasını kapsayan topikal kapsaisinoidler ve tek başına lokal kapsaisin enjeksiyonu (2, 10, 20 µg/pençe) ödem hacmi veya ağırlığı üzerinde hiçbir etkiye sebep olmamıştır. Ancak yakı içeren topikal kapsaisinoidler ile diklofenak kombinasyonu diklofenakın inflamasyon üzerindeki etkinliğini anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Plazma ekstrasvazasyonu sergileyen pençelerin Evans mavisi içeriği, yakı içeren kapsaisinoidlerle diklofenak olmaksızın ve ayrıca en düşük dozda kapsaisin enjeksiyonu ve diklofenak kombinasyonu ile azalmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, yakı içeren topikal kapsaisinoid uygulamalarının diklofenakin antiinflamatuvar etkisini arttırdığını ve yararlı etkisinin sadece kapsaisin içeriği ile ilgili olmayabileceğini düşündürmektedir. Lokal inflamatuvar bozuklukların tedavisinde NSAİİ'lar ile yakı içeren topikal kapsaisinoidlerin kombinasyonu ilacın antiinflamatuvar etkinliğini sistemik yan etkiler olmadan arttırabilmiştir.



## 8. SUMMARY

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most used drug in musculoskeletal disorders, but their systemic adverse effects limit their therapeutic benefit in local inflammation. On the other hand, topical preparations of capsaicinoids are widely used for musculoskeletal disorders as a complementary therapy. In this study, the effects of both topical capsaicinoids containing patch and local subcutaneous capsaicin application on the anti-inflammatory action of NSAID were examined.

Carrageenan-induced paw edema of rats was used in the inflammation model. The volume and weight of paw edema and plasma extravasation in the paw were determined after carrageenan injection.

The systemic application of diclofenac (3 mg/kg) which is a NSAID, significantly decreased the volume and weight of the paw edema. Topical capsaicinoids containing patch application or local capsaicin injection (2, 10, 20 µg/paw) alone did not cause any effect on edema volume and weight. However, the combination of diclofenac with topical capsaicinoids containing patch significantly increased the effectiveness of diclofenac on inflammation. Evans blue content of the paws that represents plasma extravasation was decreased by capsaicinoids containing patch with and without diclofenac and diclofenac combination with the lowest dose of capsaicin injection.

The results of this study indicate that topical application of capsaicinoids containing patch enhances the anti-inflammatory effect of diclofenac and its beneficial effect may not purely relate to its capsaicin content. In the treatment of local inflammatory disorders, the combination of NSAID with topical capsaicinoids containing patch could increase the anti-inflammatory efficiency of drug without systemic side effects.



## 9. KAYNAKLAR

1. Rao P, Knaus EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. J Pharm Pharm Sci. 2008;11(2):81s-110s.
2. Vonkeman HE, van de Laar MA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention. Semin Arthritis Rheum. 2010;39(4):294-312.
3. Haroutiunian S, Drennan DA, Lipman AG. Topical NSAID therapy for musculoskeletal pain. PainMed. 2010;11(4):535-49.
4. Szolcsányi J. Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. Neuropeptides. 2004;38(6):377-84.
5. Luo XJ, Peng J, Li YJ. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. Eur J Pharmacol. 2011;650(1):1-7.
6. Watanabe T, Ohnuki K, Kobata K. Studies on the metabolism and toxicology of emerging capsinoids. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2011;7(5):533-42.
7. Szallasi A, Blumberg PM. Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. Pharmacol Rev. 1999;51(2):159-212.

8. Steinhoff M, Ständer S, Seeliger S, Ansel JC, Schmelz M, Luger T. Modern aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Arch Dermatol.* 2003;139(11):1479-88.
9. Zegarska B, Lelińska A, Tyrakowski T. Clinical and experimental aspects of cutaneous neurogenic inflammation. *Pharmacol Rep.* 2006;58(1):13-21.
10. Okajima K, Harada N. Regulation of inflammatory responses by sensory neurons: molecular mechanism(s) and possible therapeutic applications. *Curr Med Chem.* 2006;13(19):2241-51.
11. Altman RD, Barthel HR. Topical therapies for osteoarthritis. *Drugs.* 2011; 9;71(10):1259-79.
12. Anand P, Bley K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. *Br J Anaesth.* 2011;107(4):490-502.
13. Papoiu AD, Yosipovitch G. Topical capsaicin. The fire of a 'hot' medicine is reignited. *Expert Opin Pharmacother.* 2010;11(8):1359-71.
14. Wallengren J, Möller H. The effect of capsaicin on some experimental inflammations in human skin. *Acta Derm Venereol.* 1986;66(5):375-80.

15. Joe B, Lokesh BR. Effect of curcumin and capsaicin on arachidonic acid metabolism and lysosomal enzyme secretion by rat peritoneal macrophages. *Lipids*. 1997;32(11):1173-80.
16. Kim CS, Kawada T, Kim BS, Han IS, Choe SY, Kurata T, Yu R. Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages. *Cell Signal*. 2003;15(3):299-306.
17. Manjunatha H, Srinivasan K. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. *FEBS J*. 2006;273(19):4528-37.
18. Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1969;166(1):96-103.
19. Garcia Leme J, Hamamura L, Leite MP, Rocha e Silva M. Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenin and by heating. *Br J Pharmacol*. 1973;48(1):88-96.
20. Morris CJ. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. *Methods Mol Biol*. 2003;225:115-21
21. Gan TJ. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Curr Med Res Opin*. 2010;26(7):1715-31.

22. Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12 th ed. San Diego: California; 2010

23. Kuralay F. Çavdar Z. İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. Genel Tıp Derg, 2006;16(3): p.143-152.

24. Hastane infeksiyonları Dergisi 2001; 5: 69-83.

25. Cotran R, Kumar V, Collins T. Acute and Chronic Inflammation. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster J (Eds). Pathologic Basis of Disease. Sixth ed. Philadelphia, Saunders 2009;43-57.

26. Gökşen US, Kelekçi NG. Antiinflatuvar Tedavide Yeni Bir Yaklaşım: Siklooksijenaz ve 5-Lipooksijenazın Dual İnhibitörleri Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 30 / Sayı 1 / Ocak 2010;ss.81-118.

27. Rouzer CA, Marnett LJ. Cyclooxygenases: structural and functional insights. J Lipid Res. 2009;50 Suppl:S29-34.

28. Kayaalp O, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Tas,13.Baskı, Ankara, 2012;s.1327-1344.

29. Marnett, L.J. Rowlinson, S.W. Goodwin, D.C. Kalgutkar, A.S., Lanzo, C.A.: Arachidonic Acid Oxygenation by COX-1 and COX-2:



Mechanisms of Catalysis and Inhibition, Journal of Biological Chemistry, 1999;274 (33), 22903.

30. Sandulache VC, Parekh A, Li-Korotky H, Dohar JE, Hebda PA. Prostaglandin E2 inhibition of keloid fibroblast migration, contraction, and transforming growth factor (TGF)-beta1-induced collagen synthesis. Wound Repair Regen. 2007;15(1):122-33.
31. Guay J, Bateman K, Gordon R, Mancini J, Riendeau D. Carrageenan-induced paw edema in rat elicits a predominant prostaglandin E2 (PGE2) response in the central nervous system associated with the induction of microsomal PGE2 synthase-1. J Biol Chem. 2004;279(23):24866-72.
32. Park JY, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E2 synthesis and secretion: the role of PGE2 synthases. Clin Immunol. 2006;119(3):229-40.
33. Kayaalp O, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Tas,13.Baskı, Ankara, 2012;s.869-900.
34. Bertolini A, Ottani A, Sandrini M. Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal. Pharmacol Res. 2001;44(6):437-50.
35. Vane JR. The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs. J Physiol Pharmacol. 2000;51(4 Pt 1):573-86.
36. Tamblyn R, Berkson L, Dauphinee WD, Gayton D, Grad R, Huang A, Isaac L, McLeod P, Snell L. Unnecessary prescribing of NSAIDs and

the management of NSAID-related gastropathy in medical practice.  
Ann Intern Med. 1997;15;127(6):429-38.

37. Br. J. Pharmacol. 2011 Guide to Receptors and Channels (GRAC)  
<http://www.brjpharmacol.org>

38. Fabiola GF, Pattabhi V, Nagarajan K. Structural basis for selective inhibition of COX-2 by nimesulide. Bioorg Med Chem. 1998;6(12):2337-44.

39. Todd PA, Sorkin EM. Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. Drugs, 1988;35:244-285.

40. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. Scand J Rheumatol Suppl. 1996;102:9-21.

41. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Non steroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 22;96(13):7563-8. Erratum in: Proc Natl Acad Sci US A 1999;17;96(17):9666.

42. Ortiz MI, Torres-López JE, Castañeda-Hernández G, Rosas R, Vidal-Cantú GC, Granados-Soto V. Pharmacological evidence for the activation of K(+) channels by diclofenac. Eur J Pharmacol. 2002;1;438(1-2):85-91.

43. Ortiz MI, Granados-Soto V, Castañeda-Hernández G. The NO-cGMP-K<sup>+</sup> channel pathway participates in the antinociceptive effect of diclofenac, but not of indomethacin. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003;76(1):187-95.
44. Alves DP, Tatsuo MA, Leite R, Duarte ID. Diclofenac-induced peripheral antinociception is associated with ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels activation. *Life Sci.* 2004; 2;74(20):2577-91.
45. North RA. Twelfth Gaddum memorial lecture. Drug receptors and the inhibition of nerve cells. *Br J Pharmacol.* 1989;98(1):13-28.
46. Tonussi CR, Ferreira SH. Mechanism of diclofenac analgesia: direct blockade of inflammatory sensitization. *Eur J Pharmacol.* 1994;14;251(2-3):173-9
47. Van Hecken A, Schwartz JI, Depré M, De Lepeleire I, Dallob A, Tanaka W, Wynants K, Buntinx A, Arnout J, Wong PH, Ebel DL, Gertz BJ, De Schepper PJ. Comparative inhibitory activity of rofecoxib, meloxicam, diclofenac, ibuprofen, and naproxen on COX-2 versus COX-1 in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2000;40(10):1109-20.
48. Wittenberg RH, Willburger RE, Kleemeyer KS, Peskar BA. In vitro release of prostaglandins and leukotrienes from synovial tissue, cartilage, and bone in degenerative joint diseases. *Arthritis Rheum.* 1993;36(10):1444-50.

49. Ku EC, Lee W, Kothari HV, Kimble EF, Liauw L, Tjan J. The effects of diclofenac sodium on arachidonic acid metabolism. *Semin Arthritis Rheum.* 1985;15(2 Suppl 1):36-41.
50. Ku EC, Lee W, Kothari HV, Scholer DW. Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. *Am J Med.* 1986;28;80(4B):18 23.
51. Final report on the safety assessment of capsicum annuum extract, capsicum annuum fruit extract, capsicum annuum resin, capsicum annuum fruit powder, capsicum frutescens fruit, capsicum frutescens fruit extract, capsicum frutescens resin, and capsaicin. *Int J Toxicol.* 2007;26 Suppl 1:3-106.
52. Bode AM, Dong Z. The two faces of capsaicin. *Cancer Res.* 2011;15;71(8):2809-14.
53. Şener E, Şahin S. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 29 / Sayı 2 / Temmuz 2010 / ss. 149-163.
54. Fraenkel L, Bogardus ST Jr, Concato J, Wittink DR. Treatment options in knee osteoarthritis: the patient's perspective. *ArchInternMed.* 2004;28;164(12):1299-304.
55. Remadevi R, Szallisi A. Adlea (ALGRX-4975), an injectable capsaicin (TRPV1 receptor agonist) formulation for longlasting pain relief. *IDrugs.* 2008;11(2):120 32.

56. Spiller F, Alves MK, Vieira SM, Carvalho TA, Leite CE, Lunardelli A, Poloni JA, Cunha FQ, de Oliveira JR. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *J Pharm Pharmacol*. 2008;60(4):473-8.
57. Thoennissen NH, O'Kelly J, Lu D, Iwanski GB, La DT, Abbassi S, Leiter A, Karlan B, Mehta R, Koeffler HP. Capsaicin causes cell-cycle arrest and apoptosis in ER-positive and -negative breast cancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway. *Oncogene*. 2010;14;29(2):285-96
58. Mori A, Lehmann S, O'Kelly J, Kumagai T, Desmond JC, Pervan M, McBride WH, Kizaki M, Koeffler HP. Capsaicin, a component of red peppers, inhibits the growth of androgen-independent, p53 mutant prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2006;15;66(6):3222-9.
59. Oh U, Hwang SW, Kim D. Capsaicin activates a nonselective cation channel in cultured neonatal rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci*. 1996;1;16(5):1659-67.
60. Schumacher MA. Transient receptor potential channels in pain and inflammation: therapeutic opportunities. *Pain Pract*. 2010;10(3):185-200.

61. Geppetti P, Materazzi S, Nicoletti P. The transient receptor potential vanilloid 1: role in airway inflammation and disease. *Eur J Pharmacol.* 2006;8;533(1-3):207-14.
62. Holzer P. The pharmacological challenge to tame the transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) nocisensor. *Br J Pharmacol.* 2008;155(8):1145-62.
63. Chung MK, Güler AD, Caterina MJ. TRPV1 shows dynamic ionic selectivity during agonist stimulation. *Nat Neurosci.* 2008;11(5):555-64.
64. Cortright DN, Szallasi A. Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1. An update. *Eur J Biochem.* 2004;271(10):1814-9.
65. Rosenkranz MA. Substance P at the nexus of mind and body in chronic inflammation and affective disorders. *Psychol Bull.* 2007;133(6):1007-37.
66. Lin Q, Li D, Xu X, Zou X, Fang L. Roles of TRPV1 and neuro peptidergic receptors in dorsal root reflex-mediated neurogenic inflammation induced by intradermal injection of capsaicin. *Mol Pain.* 2007;25;3:30.
67. <http://www.ilacpedia.com/prospektus/capsi-min-kapsikumlu-delikli-yaki>

68. Holzer P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev.* 1991;43(2):143-201.
69. Mason L, Moore RA, Derry S, Edwards JE, McQuay HJ. Systematic review of topical capsaicin for the treatment of chronic pain. *BMJ* 2004;24;328(7446):991-4.
70. Govindarajan VS, Sathyanarayana MN. Capsicum--production, technology, chemistry, and quality. Part V. Impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1991;29(6):435-74.
71. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1962;111:544-7.
72. Ogonowski AA, May SW, Moore AB, Barrett LT, O'Bryant CL, Pollock SH. Antiinflammatory and analgesic activity of an inhibitor of neuropeptide amidation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;280(2):846-53.
73. Süleyman H, Demirezer LO, Kuruüzüm A, Banoğlu ZN, Göçer F, Ozbakir G, Gepdiremen A. Antiinflammatory effect of the aqueous extract from *Rumex patientia* L. roots. *J Ethnopharmacol.* 1999;65(2):141-8.

74. Ahmadiani A, Javan M, Semnanian S, Barat E, Kamalinejad M. Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaves extract in the rat. *J Ethnopharmacol.* 2001;75(2-3):283-6.
75. Rimbau V, Cerdan C, Vila R, Iglesias J. Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of north-African countries (II). *Phytother Res.* 1999;13(2):128-32.
76. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M, Mahmoudi M. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine.* 2002;9(2):135-41.
77. Lanhers MC, Fleurentin J, Dorfman P, Mortier F, Pelt JM. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta*. *Planta Med.* 1991;57(3):225-31. BUL
78. Olajide OA, Makinde JM, Okpako DT, Awe SO. Studies on the anti-inflammatory and related pharmacological properties of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark. *J Ethnopharmacol.* 2000;71(1-2):153-60.
79. Kasahara Y, Hikino H, Tsurufuji S, Watanabe M, Ohuchi K. Antiinflammatory actions of ephedrine in acute inflammations<sup>1</sup>. *Planta Med.* 1985;51(4):325-31.



80. Santos FA, Rao VS. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytother Res.* 2000;14(4):240-4.
81. Özbek H. Öztürk A. Antiinflamatuvar Etkinliğin Ölçülmesinde Kullanılan yöntemler. *Van Tıp Derg.* 2003;10(1); 23-28.
82. Kouadio F, Kanko C, Juge M, Grimaud N, Jean A, N'Guessan YT, Petit JY. Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Phytother Res.* 2000;14(8):635-7.
83. Louis SM, Jamieson A, Russell NJ, Dockray GJ. The role of substance P and calcitonin gene-related peptide in neurogenic plasma extravasation and vasodilatation in the rat. *Neuroscience.* 1989;32(3):581-6.
84. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31(5):986-1000.
85. Troconis-Torres IG, Rojas-López M, Hernández-Rodríguez C, Villa-Tanaca L, Maldonado-Mendoza IE, Dorantes-Álvarez L, Tellez-Medina D, Jaramillo-Flores ME. Biochemical and molecular analysis of some commercial samples of chilli peppers from Mexico. *J Biomed Biotechnol.* 2012;873090.
86. Guo W, Kong E, Meydani M. Dietary polyphenols, inflammation, and cancer. *Nutr Cancer.* 2009;61(6):807-10.

87. Zhang L, Ravipati AS, Koyyalamudi SR, Jeong SC, Reddy N, Smith PT, Bartlett J, Shanmugam K, Münch G, Wu MJ. Antioxidant and anti-inflammatory activities of selected medicinal plants containing phenolic and flavonoid compounds. *J Agric Food Chem*. 2011;59(23):12361-7.



## 10.1. Etik Kurul Raporu

### ANKARA ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

12/10/2011

#### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ :12/10/2011  
TOPLANTI NO :2011-122  
DOSYA NO :2011-425  
KARAR NO :2011-122-476

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Emine Demirel Yılmaz'ın araştırma yürütücüsü olduğu ve Prof.Dr.Emine Demirel Yılmaz ile Yrd.Doç.Dr.M.Orhan Uludağ'ın ortak çalışmaları olan "Sıçan pençe ödeminde antiinflamatuvar ilaç etkinliğinin kapsaisin ve kapsaisin içeren yakı ile değişimi." başlıklı çalışmaları, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiş, yapılan inceleme sonucunda çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre; uygun bulunarak onaylanmasına, oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLININ AYNIDIR  
12/10/2011

  
Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU  
Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri  
Yerel Etik Kurulu Başkanı



## 10.2. Teşekkür

Yüksek Lisans dönemim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle ışık tutan, destek ve yardımlarını esirgemeyen bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU'ya,

Tez çalışmasının yürütülmesinde, sonuçlandırılmasında verdiği emek ve destek için sayın Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ'a,

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkı sağlayan, tüm çalışmalarım sırasında her türlü yardımı yapan, zaman harcayan, emek veren değerli hocam Doç. Dr. M. Orhan ULUDAĞ'a,

Laboratuvar çalışmalarım ve tez yazım aşamam sırasında desteklerini esirgemeyen ve büyük emek veren sayın Dr. Erol RAUF AĞIŞ'a

Laboratuvar deneylerime çok büyük katkısı bulunan, çalışmalarım sırasında verdiği emek ve yardımı için sayın Lab. Tek. Soner MAMUK'a

Tez yazım aşamam sırasında deneyimlerini paylaşan, emek veren, göstermiş olduğu sabır ve anlayış için sevgili arkadaşım Uzm. Ecz. Sevtap HAN'a, Tez çalışması boyunca manevi destek veren Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Bölümünde'ki tüm arkadaşlarıma ve Ceren AY GÜL 'e

Her zaman yanımda olan ve desteğini hissettiren aileme,

Saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

## 11. ÖZGEÇMİŞ

**Adı** Nilüfer

**Soyadı** Ercan

**Doğum Yeri ve Tarihi** İstanbul 21.04.1981

**Eğitimi** Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji  
A.B.D. (2010-2012)  
Cumhuriyet Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu  
(2001-2005)  
Polatlı Sağlık Meslek Lisesi (1996-1999)

**Dil** İngilizce