

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

**BAZI PİRAZOL-3-KARBOKSİLİK ASİT AMİT TÜREVLERİNİN
ANALJEZİK VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ TARAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. DUYGU ASLI ALKAN

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. M. ORHAN ULUDAĞ

ANKARA
HAZİRAN 2011

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

**BAZI PİRAZOL-3-KARBOKSİLİK ASİT AMİT TÜREVLERİNİN
ANALJEZİK VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ TARAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. DUYGU ASLI ALKAN

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. M. ORHAN ULUDAĞ

ANKARA
HAZİRAN 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

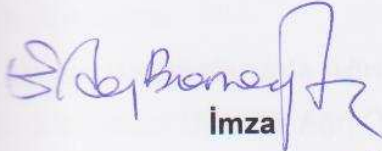
Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş
olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 23.10.2011



İmza

Prof. Dr. Nurettin ABACIOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza

Prof. Dr. Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi



İmza

Yrd. Doç Dr. M. Orhan ULUDAĞ
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Şekiller, Resimler, Grafikler	V
Tablolar	VII
Semboller ve Kısaltmalar	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı	4
2.1.1. Ağrı Algılama Teorileri	6
2.1.2. Ağrı Duyumsamasının Mekanizmaları	7
2.1.2.1. Periferik Ağrı Mekanizmaları	7
2.1.2.1.1. Ağrı Reseptörleri	9
2.1.2.1.2. Periferik Ağrı Sinir Lifleri	11
2.1.2.2. Santral Ağrı Mekanizmaları	13
2.1.2.2.1. Çıkan Ağrı Yolları	14
2.1.2.2.2. İnen Ağrı Yolları	15
2.2. Ağrı Tedavisi	16
2.2.1. Opioid Analjezikler	17
2.2.2. Opioid Olmayan Analjezikler	17
2.2.3. Adjuvanlar	19
2.3. Deney Hayvanlarında Ağrı Oluşturma Yöntemleri	19
2.3.1. Elektriksel Uyarı ile Ağrı Oluşturma	21
2.3.2. Termal Uyarı ile Ağrı Oluşturma	21
2.3.3. Mekanik Uyarı ile Ağrı Oluşturma	25
2.3.4. Kimyasal Uyarı ile Ağrı Oluşturma	25
2.4. İnflamasyon	26
2.4.1. İnflamasyonda Rol Alan Mediyatörler	28

2.4.2. İnflamasyon Oluşum Mekanizmaları	38
2.5. İnflamasyon Tedavisi	43
2.6. Deney Hayvanlarında İnflamasyon Oluşturma Yöntemleri	44
2.6.1. Akut İnflamasyon Testleri	46
2.6.2. Kronik İnflamasyon Testleri	47
2.6.3. Antiinflamatuvar Etkinin Ölçümü İçin Kullanılan Cihazlar	47
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	50
3.1. Deney Hayvanları	50
3.2. Kimyasal Maddeler	50
3.2.1. Analjezik ve Antiinflamatuvar Aktivite Tayininde Kullanmak Üzere Sentezlenen Maddeler	50
3.2.2. Diğer Kimyasal Maddeler	52
3.3. Araç ve Gereçler	52
3.4. Deney Grupları ve Yöntem	53
3.4.1. Deney Grupları	53
3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi	55
3.4.3. Pençe Ödemi Yöntemi	56
3.5. İstatistiksel Analiz	57
4. BULGULAR	59
4.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları Antinosiseptif Aktiviteler	59
4.2. Kullanılan Maddelerin Fare Pençe Ödemi Üzerinde Etkileri	62
4.2.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi	62
4.2.2. Kullanılan Maddelerin Düşük Dozda Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi	64
4.2.3. Kullanılan Maddelerin İnflamasyonun II. Fazında Oluşturdukları % Antiinflamatuvar Aktiviteler	65
4.3. Kullanılan Maddelerin Ülserojenik Aktivite ve Akut Toksisite (Mortalite) Değerleri	67

5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ	78
7. ÖZET	79
8. SUMMARY	81
9. KAYNAKLAR	83
10. Ekler	
10.1. Etik Kurul İzni	93
10.2. Teşekkür	94
10. ÖZGEÇMİŞ	95

ŞEKİLLER, RESİMLER, GRAFİKLER

Şekil 1: Ağrılı uyarının üst merkezlere doğru izlediği yol	9
Şekil 2: Ağrı yolları ile ilgili bölgeler. A: İnen ağrı yolları, B: Çıkan ağrı yolları	15
Şekil 3: Ağrı tedavisinde izlenen yollar	16
Resim 1: Hot plate (Sıcak plak) ile ağrı oluşturma yöntemi	22
Resim 2: Radyan ısı ile ağrı oluşturma (Kuyruk çekme, Tail Flick) yöntemi	24
Şekil 4: Doku hasarı sonrasında oluşan inflamatuvar cevap	27
Şekil 5: Araşidonik asit yolağı	32
Şekil 6: Yara iyileşmesinde rol oynayan hücrelerin zamana bağımlı ortaya çıkışları	40
Şekil 7: İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları	41
Resim 3: Pletismomtere ile pençe ödemi ölçümü	48
Resim 4: Deneylerde kullanılan kompas (Peacock, 0.01 mm, Ozaki Co., Japonya)	49
Şekil 8: Deneylerde kullanılan test maddelerinin (DNY 192, DNY 194, DNY 236, DNY 238) sentez basamakları	51

Şekil 9: Farelerde p-BK (para-benzokinon) ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde, asetil salisilik asit (ASA) ve pirazol türevi maddelerin (100 mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvranma sayıları	61
Şekil 10: Fare pençelerinde karajenan (carrageenan; CG, Tip I λ, 25µl/pençe, %1 a/h) ile oluşan ödemin zamanla değişimi	63
Şekil 11: Düşük doz test maddelerinin (DNY 194, DNY 236 ve DNY 238: 10mg/kg) fare pençelerinde karrajenan ile oluşan ödemin zamanla değişimi	64
Şekil 12: Farede karajenan (carrageenan; CG, Tip I λ, 25µl/pençe, %1 a/h) ile oluşturulan pençe ödeminin II. fazında (270. dakika) İndometazin (10mg/kg) ve Pirazol türevlerinin (100mg/kg, s.c.) % antiinflamatuvar aktivitelerinin Dimetil Sülfoksit (DMSO) ile karşılaştırılması	66

TABLÖLAR

Tablo 1: Test edilen maddelerin % antinosiseptif aktiviteleri, faz II'deki (270. dakika) antiinflamatuvar aktiviteleri ve midede ülserasyon oranları (n=6-14)

67

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

NSAİİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
WHO	: World Health Organization
COX	: Siklooksijenaz
COX-1	: Siklooksijenaz-1
COX-2	: Siklooksijenaz-2
p-BK	: Parabenzokinon
CG	: Karajenin
IASP	: International Association Study of Pain
SSS	: Santral Sinir Sistemi
CMH	: C Lifi Mekano-ısı-duyarlı nosispetörler
AMH	: A Lifi Mekano-ısı-duyarlı nosiseptörler
NMDA	: N-metil D-aspartik asit
NO	: Nitrik oksit
RVM	: Rostral ventromedial medulla
STS	: Spinotalamik sistem
nSTT	: Neospinotalamik yol
pSTT	: Paleospinotalamik yol
PAG	: Peraquaduktal gri madde
HMWK	: Yüksek molekül ağırlıklı kininojen
AA	: Araşidonik asit
PG	: Prostaglandin
PGG₂	: Prostaglandin G ₂
PGH₂	: Prostaglandin H ₂
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
PGD₂	: Prostaglandin D ₂
PGF_{2α}	: Prostaglandin F _{2α}
PGI₂	: Prostasiklin
TXA₂	: Tromboksan A ₂

LT	: Lökotrien
HPETE	: Hidroperoksieikozatetraenoikasit
HETE	: Hidroeikozatetraenoikasit
LTA₄	: Lökotrien A ₄
LTB₄	: Lökotrien B ₄
LTC₄	: Lökotrien C ₄
LTD₄	: Lökotrien D ₄
LTE₄	: Lökotrien E ₄
TAF	: Trombosit aktive edici faktör
IL	: İnterlökin
IL-1	: İnterlökin-1
IL-8	: İnterlökin-8
IL-17	: İnterlökin-17
IL-18	: İnterlökin-18
TNF-α	: Tümör nekroz faktör-alfa
TGF-α	: Transforme edici büyüme faktörü-alfa
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü-beta
NOS	: Nitrik oksit sentaz
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
mtNOS	: Mitokondriyal nitrik oksit sentaz
HO-1	: Hemoksijenaz-1
CO	: Karbonmonoksit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
SF	: Serum fizyolojik

1. GİRİŞ

Ağrı insanoğlunun en yakından tanıdığı ve en rahatsız edici özellikteki deneyimlerden biridir. Kronik ağrı sendromları nedeniyle bir çok insan acı çekmekte, analjezik ve antiinflamatuvar ilaçlar en fazla satılan ürünler arasında yer almaktadır. Kadınların %80'inin, erkeklerin ise %60'ının ayda bir anlamlı derecede rahatsızlık verici baş ağrısı yaşadıkları ve bütün insanların %90'ından fazlasının hayatı boyunca en azından bir kez böyle bir ağrıyı yaşadığı tespit edilmiştir¹. Bu yüksek oranların yaşam kalitesini olumsuz etkilediği düşünüldüğünde ağrı tedavisinin önemi ortaya çıkmaktadır^{1,2}.

Ağrı tedavisi bazı temel yöntemlere (ilaç, fiziksel tedavi, invazif tedavi) ve büyük miktarda psikolojik ve sosyal tekniklere dayanır. Başarılı bir ağrı tedavisi genellikle olası yaklaşımların kombinasyonunu içerir. Farmakolojik tedavi bu yaklaşımlardan en yaygın olanıdır³.

Akut ve kronik ağrı sendromlarında ağrının semptomatik kontrolü için analjezikler kullanılır². Analjezikler en yaygın kullanılan ilaçlar arasındadır ve farmakolojik açıdan opioidler ve opioid olmayanlar (NSAİİ) şeklinde iki temel sınıfa ayrılırlar^{2,4}. Analjezik seçimi ağrının şiddetine bağlı olarak basamak prensibine göre yapılmalıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nun üç basamak ilkesine göre hafif ağrılarda non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), orta şiddetteki ağrılarda NSAİİ'lere ek olarak zayıf opioidler, şiddetli ağrılarda ise ek olarak kuvvetli opioidler verilir².

NSAİİ'ler analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkili ilaçlardır⁵. Non-steroidal terimi bu ilaçları benzer etkileri olan steroidlerden (çok daha geniş etki alanları mevcuttur) ayırmak amacıyla kullanılır⁶. NSAİİ'ler narkotik değildirler. Bu grubun en çok bilinen üyeleri aspirin ve ibuprofendir. Parasetamol (asetaminofen) çok az antiinflamatuvar etki gösterir⁷. 1829'un başlarında salisilik asitin izolasyonu ile birlikte NSAİİ'ler ağrının (düşük dozlarda) ve inflamasyonun (yüksek dozlarda) ilaçla tedavisinin önemli bir kısmını oluşturmaya başlamıştır⁸. Opioid ilaçların güçlü etkinliklerine karşın istenmeyen etkilerinin fazla oluşu ve etkilerine tolerans gelişmesi sebebiyle NSAİİ'ler daha fazla tercih edilmektedir. NSAİİ'ler opioidlere göre çok az bağımlılık potansiyeli taşır ve sedasyon veya solunum depresyonu yapmazlar^{9,10}.

NSAİİ'ler genel olarak siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Siklooksijenaz enziminin siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) olarak iki izoenzimi vardır. Siklooksijenaz araziidonik asitten tromboksan ve prostaglandin yapımında katalizör görevi görür. Prostaglandinler inflamasyon oluşum sürecinde diğer maddelerle birlikte iletim molekülü olarak rol oynar⁸. NSAİİ'ler bu iki izoenzimin birini selektif olarak veya ikisini birden (non-selektif) inhibe edebilirler.

Ağrının etkeni, oluşum mekanizmaları, ağrı tedavi yöntemleri ve ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar düşünüldüğünde çok geniş ve ayrıntılı bir süreç karşımıza çıkmaktadır. Ağrı tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçların NSAİİ'ler olması ağrı çalışmalarında ilgiyi bu yöne çekmiştir. Bugün kullanılan pek çok NSAİİ olmasına karşın hala daha az yan etkisi olan ve daha güçlü ağrı kesici bulma ihtiyacı devam etmektedir.

Biz bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda sentezlenen ve moleküler yapıları karakterize edilen bazı NSAİİ'lerin amit türevlerinin biyolojik aktivitelerini araştırmayı amaçladık.

Analjezik ve antiinflamatuvar etkisi bilinen ve yaygın olarak kullanılan pirazol grubu ana bileşiklerden yola çıkarak daha güçlü etki profiline sahip olabileceğini düşündüğümüz pirazol-3-karboksilik asit amit türevlerinin etki taramalarını gerçekleştirdik. Bu amaçla analjezik aktivite değerlendirmesi için farede para-benzokinon (p-BK) ile oluşturulan ağrı modeli (writhing: abdominal konstriksiyon) ve antiinflamatuvar aktivite değerlendirmesi için de farede karagenan (carrageenan: CG) ile oluşturulan pençe ödemi yöntemini uyguladık. Elde edilen bulgularla hala kullanılmakta olan NSAİİ'lerin daha güçlü ve daha az yan etkiye sahip ilaç adayı potansiyelleri olan formlarını bulmayı, ileri araştırmaların temelini oluşturabilecek sonuçlar elde etmeyi amaçladık. Bu sonuçların ağrının daha iyi tedavi edilebilmesine ve yeni alternatiflerin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRI

Uluslararası Ağrı Çalışmaları Derneği (IASP)'nin Taksonomi Komitesi tarafından yapılan tanımlamaya göre ağrı; var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen hoşla gitmeyen duysal ve emosyonel deneyimdir^{11,12}. Bu tanıma göre ağrı, bir duyum ve hoşla gitmeyen yapıda olduğundan her zaman öznelir. Bu nedenle ağrıyı değerlendirirken hem fiziksel hem de fiziksel olmayan bileşenlerinin birlikte değerlendirilmesi gerekir¹³.

Nosisepsiyon terimi noci (Latince yara, zarar)'den türemiş olup var olan veya olası ağrılı uyararı algılayan organizmanın geçirdiği sürece verilen addır^{11,14}. Tüm nosisepsiyonlar ağrı duyumsaması oluşturur ancak, tüm ağrılar nosisepsiyon sonucu oluşmaz¹¹. Ağrılı uyarılar olmasa da bazı hastalar ağrıdan şikayet etmektedir¹¹.

Ağrı 3 temel başlıkta sınıflandırılabilir³

1. Patofizyolojik kökene göre;
 - a. Somatik
 - b. Viseral
 - c. Nöropatik

2. Başlangıç ve süreye göre;
 - a. Akut
 - b. Kronik
3. Bölgeye göre (karın, sırt, göğüs, baş ağrısı gibi);

Ağrı patofizyolojik kökenine göre somatik, viseral ve nöropatik olarak sınıflandırılabilir. Somatik ağrı deri, kemik, kas, bağ doku ve eklemlerdeki nosiseptörlerin aktivasyonu sonucu oluşur, kolaylıkla fark edilir ve tedaviye iyi cevap verir. Vasküler düz kaslar veya iç organlardaki noksiyus uyarının sebep olduğu viseral ağrı daha yaygındır ve somatik ağrıya göre tedaviye daha az cevap verir. Nöropatik ağrı ise nörolojik hastalıkların sebep olduğu sinir sistemindeki patolojik değişikliklere bağlıdır³.

Ağrı için diğer bir sınıflandırma ağrının başlangıcı ve süresine göre akut ağrı ve kronik ağrı olarak yapılabilir^{3,11}. Akut ağrı nosisepsiyona bağlıdır. Bu ağrının başlangıcı anidir ve kısa sürer³. Doku hasarına, hastalığa veya kas ya da iç organların anormal fonksiyonuna bağlı olarak ağrılı uyarının oluşturduğu durumdur. Kronik ağrı ise akut bir hastalıktan veya makul bir iyileşme sürecinden sonra ağrının devam etmesi ile meydana gelir. Bu süreç 1-6 ay arasında değişir. Nosiseptif, nöropatik veya her ikisi birden olabilir. Psikolojik ve çevresel faktörler rol oynar¹¹.

Ağrı etkilediği bölgeye (baş, göğüs ağrısı gibi) göre de sınıflandırılır.

Nosiseptif ağrı ağrılı stimuluslardan etkilenen özgün reseptörler olan periferik reseptörlerin aktivasyonu veya sensitizasyonu sonucu oluşmaktadır¹¹. Nöropatik ağrı nörolojik bir yapı ve/veya işlevin değişmesi ile ortaya çıkar¹³. Periferik veya santral nöral yapıların hasara uğramasından ya da bozulmasından gelişmektedir¹¹. Nöropatik ağrının nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmamasıdır¹³.

Ağrının algılanması diğer duyu algılamalarında olduğu gibi reseptörlere dayanır. Ağrılı stimulus ile uyarılma başlar, santral sinir sistemi (SSS)'ne taşınır ve bu sistem içerisindeki çeşitli merkezlere iletilir. Duyu bazen protopatik (noksiyus) bazen de epikriptik (non-noksiyus) olabilir. Epikriptik ağrı (dokunma, bası, propiosepsiyon, ısı değerlendirmesi) düşük eşik değerli reseptörlerle karakterizedir. Genellikle kalın miyelinli liflerle taşınır. Protopatik ağrı ise tam tersine yüksek eşik değerli reseptörlerle karakterizedir ve ince miyelinli (A δ) ve miyelinsiz (C) liflerle taşınır¹¹.

2.1.1. Ağrı Algılama Teorileri

Günümüze kadar ağrı ile ilgili üç önemli teori ileri sürülmüştür¹¹.

1- Spesifik Teori: Bu teoriye göre ağrı spesifik liflerle iletilmektedir. Uyarılar merkezi sinir sisteminde spesifik bir alanda sonlanırlar. Bu teorinin doğru olmadığı kanıtlanmıştır¹³.

2- Pattern Teorisi: Bu teoriye göre uyarı spinal korda girdikten sonra ağrı duyusunun başlaması için uyarının birikmesi gerekir. Bu birikimin sinir sistemindeki akımlar olduğu ileri sürülmüştür. Nöronun bu kollaterali kendisinin yeniden uyarılması için uyarılır¹³.

3- Kapı Kontrol Teorisi: Kapı kontrol teorisi 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından ileri sürülmüştür. Bu teoride fizyolojik faktörlerin ağrı deneyimini hafifleterek ya da şiddetlendirerek ağrı algı yanıtını etkilediği önerilir¹⁵. Bu teoriye göre akut ve kronik ağrıda deriden gelen uyarılar spinal kord ve beyinde modülasyona uğrarlar^{13,16}. Deriden gelen uyarılar spinal kordda üç farklı sisteme iletilirler. Bu sistemler dorsal kolon, arka boynuz santral transmisyon hücreleri (T hücreleri) ve substantia gelatinoza hücreleridir¹³. Kapı kontrol teorisi ağrı çalışmaları ve tedavisindeki gelişim için zemin hazırlamıştır¹⁶.

2.1.2. Ağrı Duyumsamasının Mekanizmaları

Ağrı oluşumunun mekanizmaları lokalizasyonlar, yapısal özellikler ve nöromediyatörler göz önüne alınarak periferik mekanizmalar ve santral mekanizmalar olmak üzere iki ana kompartımana ayrılabilir.

2.1.2.1. Periferik ağrı mekanizmaları

Nosiseptif sürecin başlangıç noktası primer aferent nosiseptörlerdir. Bunlar mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt

veren serbest sinir uçlarıdır¹⁷. Nöreseptörün yanıt özelliklerine bağılı olarak spinal korda doğıru bir yayılım meydana gelir. Ağrı bilgisinin yayılımı ile ilgili reseptörler A delta mekanotermal ve C polimodal nöreseptörler olarak iki sınıfta incelenebilir. Birçok ağrı primer aferent nöronların, özellikle C polimodal nöreseptörlerin uyarılması ile başlar. Ancak nöreseptör aktivasyonu sürecinde başka etkenler de işin içine girer. Örneğin, ciltte yaralanma ile bu bölgede inflamatuvar süreçler de başlar ve buna bağılı olarak çeşitli maddeler salgılanır¹³.

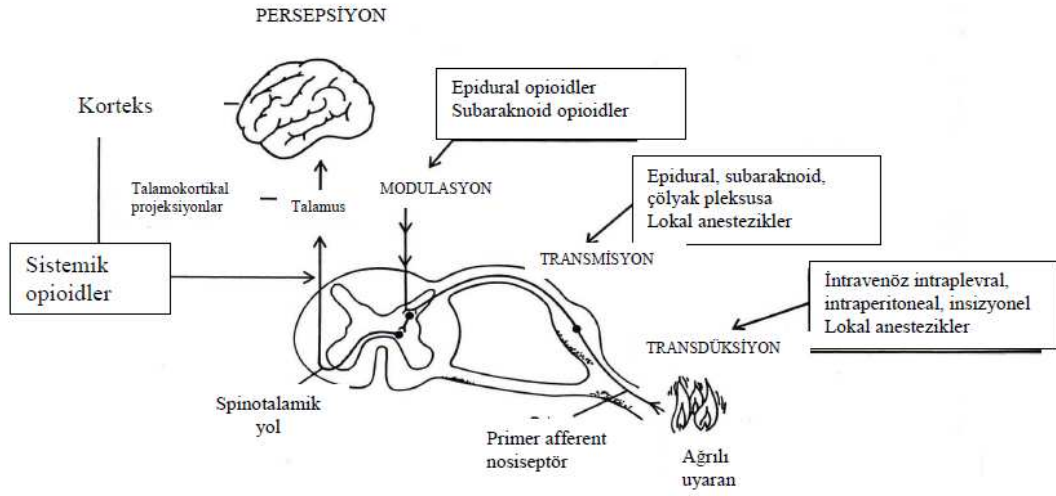
Ağırlı uyaran dört aşamada üst merkeze doğıru yol izler (Şekil 1) Bu aşamalar:

Transdüksiyon: Bir enerjinin başka bir enerjiye dönüşümüdür¹⁸. Örneğin sıcak bir uyarının ağrı meydana getirebilmesi için belirli bir derecenin üzerine çıkması gerekir. Nöreseptörler bu koşulda duyarlı hale geçerler^{13,19}.

Transmisyon: Nöreseptörler tarafından algılanan ağrı bilgisinin omuriliğe ve daha üst merkezlere iletilmesi aşamasıdır²⁰. Bu iletimde miyelinli A delta ve miyelinsiz C lifleri etkilidir¹³.

Modülasyon: Omurilik seviyesinde gerçekleşir. Kapı kontrol teorisine göre ağırlı uyaran omurilikte engelle karşılaşmakta, spinal kordda değişime uğramakta ve sonrasında daha üst merkezlere iletilmektedir^{13,21}.

Persepsiyon: Omurilikten geçen ağrılı uyarının çeşitli çıkan yollar aracılığıyla üst merkezlere doğru iletilmesi ve ağrının algılanması aşamasıdır^{13,22}. Dönüşüm, iletim ve modülasyondan sonra kişiye özgü etkileşimin gerçekleştiği son aşamadır^{22,23}.



Şekil 1. Ağrılı uyarının üst merkeze doğru izlediği yol²⁴.

2.1.2.1.1. Ağrı Reseptörleri

Nosiseptör olarak adlandırılan ağrı reseptörü Uluslararası Ağrı Çalışmaları Derneği (IASP) tanımına göre noksiyus uyarana veya uzun süreçte noksiyus olan uyarana duyarlı reseptördür¹⁴. Nosiseptörler sinir sistemi dışında tüm doku ve organlarda bulunan reseptörlerdir². Ağrı ileten lifler ile omuriliğe, oradan da talamusa iletilen ve serebral korteks tarafından ağrı olarak algılanan uyarılar, nosiseptörler tarafından

algılanır¹³. Hasarlı dokuda üretilen sitokin, kemokin ve diğer inflamatuvar mediyatörlere doğrudan yanıt verirler²⁵.

Nosiseptörlerle ilgili son yapılan çalışmalarda sadece ısı ve mekanik uyarılar kullanılmıştır. Bu nedenle CMH ve AMH kısaltmaları sırasıyla C lifi mekano-ısı-duyarlı nosiseptörler ve A lifi mekano-ısı-duyarlı nosiseptörler olarak kullanılır. Primatlarda yapılan bir çalışmaya göre bir lif ısı ve mekanik uyarana yanıt veriyorsa birçok durumda kimyasal uyarana da yanıt verir. Dolayısıyla CMH ve AMH polimodal nosiseptörler olarak da adlandırılabilir²⁶.

Nosiseptörler aktivasyon için yüksek eşik değerli olmakla karakterizedir. Ağrılı uyarın iki farklı yapıda olabilir: hızlı, keskin ve iyi lokalize edilebilen (ilk ağrı) ağrılı uyarın kısa bir latent periyot (0,1 sn.) sonrası Aδ lifleri ile iletilir; künt, etkisi yavaş başlayan ve iyi lokalize edilemeyen (ikincil ağrı) ağrılı uyarın ise C lifleri ile iletilir¹¹.

Birçok nosiseptör ısıya, mekanik veya kimyasal doku hasarına duyarlı serbest sinir uçlarını içermektedir. Bu bağlamda çeşitleri vardır:

- 1) Mekanonosiseptörler mekanik uyarılara duyarlıdır.
- 2) Sessiz nosiseptörler, sadece inflamasyonda yanıt verir.

3) Polimodal mekanotermal nosiseptörler oldukça yaygındır ve aşırı basınca, aşırı ısıya ($>42^{\circ}\text{C}$ ve $<18^{\circ}\text{C}$) ve algojenlere (bradikinin, histamin, serotonin, H^+ , K^+ , bazı prostaglandinler ve ATP) duyarlıdır^{11,27}.

Nosiseptörler hem somatik hem viseral dokularda bulunur. Primer aferent nöronlar spinal somatik, sempatik veya parasempatik sinirler boyunca ilerleyerek dokulara ulaşırlar. Somatik nosiseptörler ciltte (kütanöz) ve derin dokularda (kas, tendon ve kemik), viseral nosiseptörler iç organlarda bulunur²⁸. Derin nosiseptörler ağrılı uyarana kütanöz nosiseptörlerden daha az duyarlıdır, ancak inflamasyonla kolayca sensitize olur¹¹.

2.1.2.1.2. Periferik Ağrı Sinir Lifleri

Üst merkezlere çıkan yolların birinci nöronlarını iki tip aferent sinir lifi oluşturur²⁹.

a) Kalın lifler (A alfa lifleri): Esas olarak ağrı oluşturmeyen (non-noksiyus) uyarıları iletirler³⁰. Hızlı ileti sağlar, sadece düşük eşik değerli mekanoreseptörlerin uyarılmasına yanıt verirler^{13,30}.

Bu lifler lemniskal ve neo-spinotalamik sistemin orijini oluşturur. Birinci nöronlar ciltten orijin alır, hücre gövdeleri arka kök gangliyonundadır ve omuriliğe arka boynuzdan girip üç ana çıkan yolu izler. Bu yollar aynı taraftaki dorsal lemniskal traktus, dorsolateral traktus ve karşı taraftaki ventrolateral traktustur. Dorsal lemniskal traktustaki lifler

değişik yüksek seviyelerde (ikinci nöron) sonlanır. İkinci nöronlar orta hattı geçerek medial lemniscusu oluşturur ve talamusun ventrobazal nükleusunda sonlanırlar. Üçüncü nöronlar ise somatosensoryal kortekse yayılır³⁰.

Bu sistemle beyine gelen uyarı diskriminitif olarak algılanır, ağrı uyandırmamalarına karşın ağırlı uyarılarla aktive edilen küçük liflerden gelen uyarının değiştirilmesi için bilgi verir³⁰.

b) İnce lifler (A delta ve C lifleri): Küçük çaplıdırlar ve yavaş iletim sağlarlar^{13,30}. A delta lifleri miyelinli, C lifleri miyelinsizdir. Primer olarak ağırlı uyarının (noksiyus stimulus) santral merkezlere iletiminden sorumludurlar³⁰.

Miyelinli A delta liflerinin bir kısmı orta veya düşük şiddetteki uyarılar tarafından aktive edilebilirken yüksek eşik değerli reseptörlerin bulunduğu miyelinsiz C lifleri şiddetli veya zarar verici tekrarlayan uyarılarla aktive olur³⁰.

İnce aferent lifler paleospinotalamik sistemin orijinini meydana getirir. İnce lif-reseptör birimleri (A delta ve C lifleri) birinci nöronudur, hücre gövdeleri ise arka kök gangliyonda yer alır. Arka boynuza girdikten sonra dallanır ve sinaps yaparlar (ikinci nöron). Sinapslardan sonra ikinci nöronun lifleri orta hattı geçer ve ventrolateral kolonda yukarı doğru çıkar, beyin sapı (bulbus), orta beyin ve talamusa ulaşır. Birden

fazla kaynaktan gelen uyarılar talamusta birbirine yaklaşır. Üçüncü nöronlar talamustan kortekse yayılır³⁰.

Bu lif sistemiyle beyine iletilen uyarılar ağrı deneyiminin oluşmasını sağlar. A delta liflerinin aktivasyonu keskin, lokalize bir ağrı meydana getirirken C liflerinin tekrarlayan ağırlı uyarılarla aktivasyonu lokalize edilemeyen, şiddetli ağrıya neden olur³⁰.

2.1.2.2. Santral ağrı mekanizmaları

Santral ağrı IASP (Uluslararası Ağrı Çalışmaları Derneği) tarafından yapılan tanıma göre, SSS'nin primer lezyonunun veya disfonksiyonunun sebep olduğu ağrıdır³¹.

SSS'deki nosiseptif uyarı spinal kord nöroplastisitesi ve akut ve dirençli nosiseptif input ve davranışsal ve duygusal uyarıyı kapsayan, farklı çevresel sinyallerle aktive edilen supraspinal bölgelerden inen etkiler boyunca modüle edilir. Santral ağrı mekanizmaları tam olarak anlaşılabilmiş değildir. NMDA (N-metil D-aspartat) reseptörlerinin ve nitrik oksit (NO) üretiminin santral sensitizasyon, hiperaljezi ve kronik ağrıdaki rolü birçok periferik hasar modelinde gösterilmiştir. Dirençli nosiseptif inputun supraspinal bölgelerden (rostral ventral medulla gibi) belirli kolaylaştırıcı ve gizli inhibe edici etkilerin aktivasyonuna dayanan santrifugal inen modülasyona bağlı olduğu gösterilmiştir. RVM'deki (rostral ventromedial medulla) inen modülatör etkilerin seçici olarak hasarsız dokularda, hasarlı bölgeden uzakta (sekonder hiperaljezi) gözlenen

hiperaljezide payı olduğu gör÷lmektedir ve spinal kordda bulunan mekanizmalara benzer mekanizmaları içerir (NMDA resept÷rleri ve NO üretimi)³².

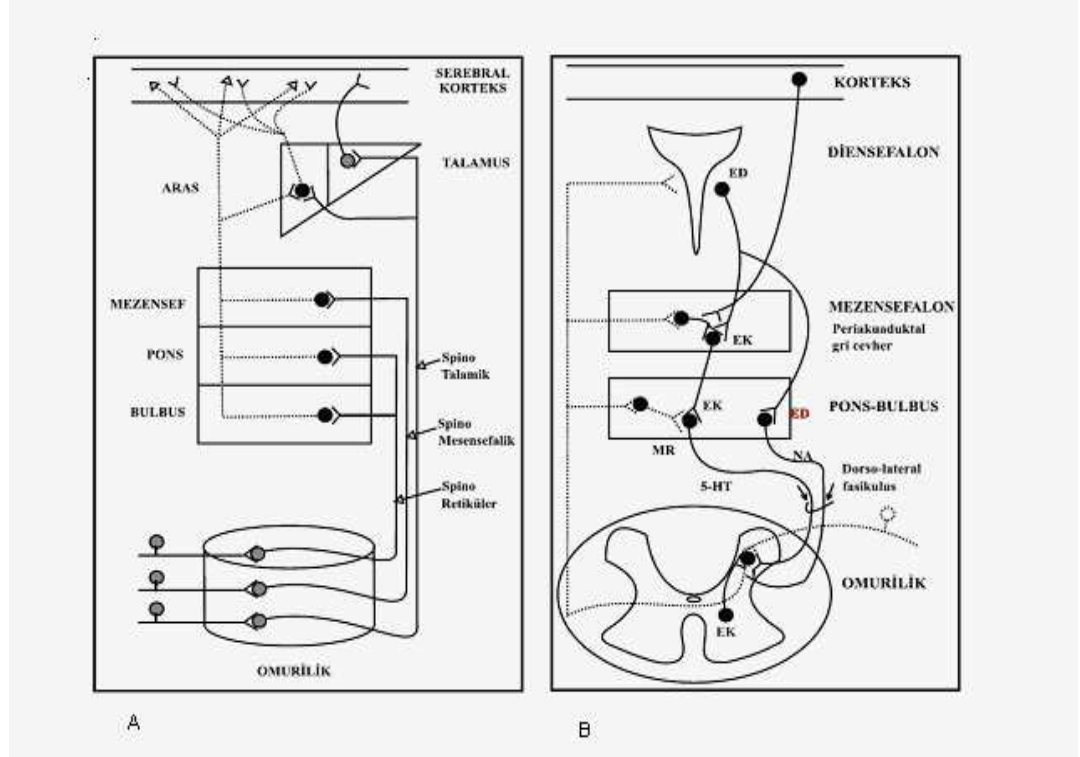
2.1.2.2.1. ıkan Ağrı Yolları

Spinotalamik yol ağrı impulslarını beyne iletir. Bu yoldaki nöronlar dorsal kökün lamina I ve V'inde ve gri maddenin orta ve ventralinde yer alır. Bu nöronların büyük çoğunluğu kontralateral tarafta bulunur, hem noksiyus uyarıya hem de dokunma ve güçlü basınca yanıt verir³³.

Spinotalamik sistem (STS), neospinotalamik yol (nSTT) ve paleospinotalamik yol (pSTT) olmak üzere iki ayrı ana yoldan oluşmaktadır^{34,35}. nSTT filogenetik olarak daha yenidir^{36,37,38}. Spinotalamik sistemin bu kısmı ağrı ve dokunma hissinin lokalizasyonu, başlangıcı, süresi ve şiddeti hakkında bilgi vermesi nedeniyle önemlidir^{33,39,40}.

Paleospinotalamik yol ise spinoretiküler ve spinomezensefalik yol olarak ikiye ayrılır^{42,43,44}. Taşıdığı impulsu formatio reticularise, peraquaduktal gri maddeye (PAG), hipotalamusa, limbik sisteme ve medial talamusa ileterek nosiseptif uyarının supraspinal refleks yanıtını oluşturur^{39,45,46}. Bu yol ağrının acı verici özelliğinin anatomik temelini oluşturur^{29,47}.

Spinotalamik lifler spinal korddan çıkışta retiküler formasyonun bir çok seviyesine kollateral gönderir³³ (Şekil 2).



Şekil 2. Ağrı yolları ile ilgili bölgeler. A: İnen ağrı yolları, B: Çıkan ağrı yolları⁴⁸

2.1.2.2.2. İnen Ağrı Yolları

SSS aktivitesinin büyük bir kısmı inen lifler kanalıyla seleksiyon, modülasyon ve çıkan duyumsal bilgiye yöneliktir. Bu inen sistemlerin bazıları ağrının modülasyonu ve kontrolü için oldukça spesifiktir. Serebral korteks, beyin sapındaki periaküduktal gri madde ve magnus nükleustaki serotonerjik nöronların dorsal kökün substantia

jelatinosadaki nöral transmisyonunda belirgin modölatör etkileri olduğu bilinmektedir³³.

İnen uyarılar spinal kordun dorsal kökünde ilk sinaps seviyesindeki duysal liflerle yalnızca sinaptik transmisyonu etkilemezler, aynı zamanda beyin-omurilik ekseninin her seviyesindeki çıkan bilgiyi modüle etmek amacıyla bulbar ve diensefalik seviyelerde rol oynarlar^{44,49}. Ayrıca çıkan duysal inputu alan her seviyede bu alana giren inputu etkileyebilen inen nöronlar vardır. Bu çıkan yolların fonksiyonel değeri ağrının gelişimi açısından yeni bilgi olarak açığa çıkmaktadır^{33,49} (Şekil 2).

2.2. AĞRI TEDAVİSİ

Ağrı tedavisine yaklaşım farmakolojik veya non-farmakolojik olabilir. Farmakolojik tedavide kullanılan ilaçlar (analjezikler) opioidler (narkotik ilaçlar), opioid olmayanlar (non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar) ve adjuvanlar olmak üzere temel olarak üç sınıfa ayrılır (Şekil 3).



Şekil 3. Ağrı tedavisinde izlenen yollar.

2.2.1. Opioid Analjezikler

Bu gruptaki ilaçlar narkotik analjezikler olarak da adlandırılır. Şiddetli ağrı durumlarında kullanılırlar. Suistimal risklerinin fazla olması nedeniyle kullanımları sınırlandırılmıştır. En tipik örneği afyondan elde edilen morfindir. Etkileri çoğunlukla santraldir ve vücuttaki opioid reseptörleri uyararak etki gösterirler. NSAİİ'lerden farkı antipiretik ve antiinflamatuvar etkilerinin olmayışıdır⁵⁰.

2.2.2. Opioid olmayan analjezikler

Morfin ve benzeri analjezikler opioidler olarak adlandırıldıkları için bu grup ilaçlara opioid olmayan analjezikler adı verilmiştir⁵¹. Yaygın adlandırılışları ise non-steroidal antiinflatuvar ilaçlar (NSAİİ)'dir.

Hafif-orta şiddetteki ağrı tedavisi için tercih edilirler. İç organlara bağlı ağrıdan çok yüzeysel yapıların ağrısında etkilidirler. Baş ağrısı, diş ağrısı, miyalji, artralji gibi genellikle lokal inflamasyonlu reaksiyona bağlı olan ağrılarda kullanılırlar. Analjezik etkilerinin yanı sıra antipiretik ve antiinflamatuvar etkileri mevcuttur. Antiinflamatuvar etkileri sayesinde inflamasyonun dört temel belirtisi olan ağrı, ödem, kızarıklık ve sıcaklık artışını giderirler. Temel etki mekanizmaları COX enzimini bloke etme yoluyla gerçekleşir. COX enzim aktivitesi ile membran fosfolipidlerinden prostaglandin sentezine giden yol kontrol edilmektedir. NSAİİ ile bu enzimin bloke edilmesi sonucu prostaglandin sentezi; lipoksijenazın bloke edilmesi ile de lökotrienlerin sentezi inhibe olur^{52,53}.

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar ilaç bağımlılığı, sedasyon, bilinç bulanıklığı (narkoz hali) ve solunum depresyonu yapmadıklarından ağrı tedavisinde sıklıkla tercih edilirler.

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar kimyasal yapılarına göre dokuz gruba ayrılırlar⁴.

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
7. Fenamik asit türevleri: Mefenamik asit, flufenamik asit, etofenamid, tolfenamik asit
8. Oksikamlar ve diğer ilaçlar: Piroksikam, tenoksikam, prokuazon, azopropazon, metotrimoprazin
9. COX-2 inhibitörleri: Selekoksib, rofekoksib, etodolak, meloksikam, nimuselid.

İkinci grupta yer alan ilaçlar diğerlerinden farklı olarak antiinflamatuvar etki göstermezler. Diğer sekiz gruptaki ilaçların hepsinde antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etki birlikte bulunur⁴.

NSAİİ'lerin yaygın kullanımı nedeniyle yan etkileri de yaygınlaşarak artmaktadır. Bu grup ilaçlarda görülen iki belirgin yan etki; gastrointestinal ve renal yan etkilerdir. Gastrointestinal sistemde direkt ve indirekt iritasyon meydana gelebilir. Asidik moleküllerin gastrik mukozayı tahriş etmesi sonucu COX-1'in inhibisyonuyla koruyucu prostaglandin seviyesi düşer. Başlıca gastrointestinal etkiler; bulantı, dispepsi, ülser, diyaredir^{54,55}. Renal yan etkilerin mekanizmasının prostaglandin aracılı renal hemodinamiklerdeki (kan akışı) değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu yan etkilerin doza bağımlı olup bir çok vakada ülserin nüksetme riski, üst gastrointestinal sistemde kanama ve ölüm bildirildiğinden bu ilaçların kullanımı bir miktar sınırlandırılmıştır^{8,56,57}.

2.2.3. Adjuvanlar

Primer olarak analjezik değildirler. Analjeziklerin etkilerini artırmak amacıyla onlarla birlikte veya bazı ağrı sendromlarında tek başlarına analjezik olarak kullanılırlar^{40,58}. Adjuvan ilaçlardan sıklıkla kullanılanlar steroidler, antidepresanlar, anksiyolitikler, fenotiyazinler, antikonvülzanlar ve amfetaminler^{39,59,60}.

2.3. DENEY HAYVANLARINDA AĞRI OLUŞTURMA ve ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Hayvanlarda sözlü ifadenin olmayışı ağrının ölçümünde hiç kuşkusuz ki engel teşkil etmektedir. Hayvanın ağrı hissettiğinde ciyıklama veya inleme ile ses çıkararak yanıt verdiği durumlar da vardır. Diğer

yandan belirli bir zamanda hayvanın ağrı hissetmediğini kanıtlamak zordur çünkü, tipik fiziksel belirtiler veya bariz davranışlar göstermez. Ağrıya eşlik eden yanıtların bazen yalnızca hareketsizlik ve yorgunluk olduğunu biliyoruz. İnsanlarla kıyaslandığında belirli serebral yapılarda açık bir şekilde farklılıklar olsa bile hayvanlardaki ağrı sorusuna yalnızca insanlardakine benzer referanslarla ulaşılabilir. Bu bakımdan kortikal gelişimin derecesi göz önünde bulundurulmalıdır⁶¹.

İnsanlarda bir duyu olarak tanımlanan ağrının polimorfik doğasıyla zıt olarak hayvanlardaki ağrı yalnızca verdikleri reaksiyonlar test edilerek değerlendirilebilir⁶¹.

Bilinci açık hayvanlarda yapılan çalışmalar insanlara uygulandığında ağrı oluşturacak uyarana verilen yanıtın saptanması amacıyla eşik değerin gözlenmesini içerir. Bu çalışmalarda yanıt alındığında uyaran durdurulur. Bazen aljezik maddeler insanlarda yapılan ağrı çalışmalarında kullanılan koşullara benzer koşullar altında uygulanır⁶¹.

Bilinci açık hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalar genellikle davranışsal çalışmalar olarak adlandırılır. Nosisepsiyonun çalışıldığı davranışsal testler input-output sistemlerini oluşturur. Bu nedenle bu testleri tanımlarken input (uygulanan uyaran) ve outputun (hayvanın reaksiyonu) özellikleri belirlenmelidir⁶¹.

Bu nedenle bu testlerin tanımlanması için önce uyaran çeşidinin belirlenmesi ve ölçülen davranışsal parametrelerin tanımlanması

önemlidir. İnsan ve hayvanlarda akut ağrının altında yatan deneysel çalışmaların mekanizması duyuya sebep olacak uygun uyarının kullanılmasını gerektirir. Bu nedenle uyaran ölçülebilir, tekrarlanabilir ve non-invaziv olmalıdır⁶¹. Pek çok farklı yöntemle ağrı oluşturulabilir.

2.3.1. Elektriksel Uyarı İle Ağrı Oluşturma

Bu uyarının avantajları, ölçülebilir, tekrarlanabilir ve non-invaziv olması ve senkronize aferent sinyaller oluşturmastır. Diğer yandan ciddi dezavantajları mevcuttur. Elektriksel uyarı bir hayvanın çevresinde karşılaşılabileceği doğal bir uyarı değildir. Daha da önemlisi aşırı elektriksel uyarı tüm periferik lifleri farklı bir şekilde uyarır⁶¹.

2.3.2. Termal Uyarı İle Ağrı Oluşturma

Isı kütanöz reseptörleri stimüle etmede selektiftir. Bu nedenle termonosiseptif ve nosiseptif lifleri kapsayan periferik aksonların spesifik kategorileri uyarılabilir. Ancak sıklıkla kullanılan stimülatörlerin düşük kalorik gücü her zaman bu yöntem için sınır teşkil etmektedir. Kütanöz ısınma yavaştır (<10°C/s), bu durum periferik ve santral nöronlarda eş zamanlı olmayan bir aktivasyona sebep olur. Dolayısıyla bu da diğer duyu sistemlerinde (refleksler, uyarılmış potansiyeller, reaksiyon zamanları gibi) görülen nöral olayların uygun bir şekilde incelenmesine izin vermez⁶¹.

Hot plate (sıcak plaka) yöntemi (Resim 1); Bu yöntem fare ya da sıçanın bir termod ya da kaynayan suyla ısıtılan bir metalik tabaka içeren açık uçlu silindirik bir boşluğa konmasıyla gerçekleştirilir. Belirli bir sıcaklığa kadar ısıtılan tabaka pençe yalama ve zıplama olmak üzere reaksiyon zamanı açısından ölçülebilen iki davranışsal öge oluşturur. Her ikisi de supraspinal olarak bütünleşmiş yanıt kabul edilir⁶¹.



Resim 1. Hot plate (Sıcak plak) ile ağrı oluşturma yöntemi

Analjezik maddeler düşünüldüğünde pençe yalama yalnızca opioidlerden etkilenir. Diğer taraftan zıplama reaksiyon zamanı özellikle tabaka sıcaklığı 50°C veya daha azken ya da sıcaklık aşamalı ve lineer tarzda arttığında gücü daha az olan analjeziklerle (asetilsalisilik asit veya parasetamol) artar. Testin spesifikliğı ve duyarlılığı, pençe yalama ya da zıplama fark etmeksizin, ilk uyarılmış davranışın reaksiyon zamanı

ölçülerek artırılabilir. Hareket farede tekbiçimlidir ancak koklayan, ön ve arka pençelerini yalayan, doğrulan, ayaklarını sertçe yere vuran, kendisini yalayan sıçanda daha karışıktır. Bu davranışlar “kaotik savunma hareketleri” olarak tanımlanmıştır. Espejo ve Mir (1993) 12 farklı davranışı tespit etmiş ve tanımlamıştır. Çünkü bu davranışların çoğu mevcuttur ancak gözlemleri zordur⁶¹.

Sonuç olarak bu test hayvanın 4 pençesinin ve kuyruğunun eş zamanlı olarak uyarılmasını kapsar. Geniş vücut alanlarını kapsayan bu heterotofik uyarı şüphesiz ki gözlenen yanıtları etkileyebilen yayılmış inhibitör kontrollerini tetikler⁶¹.

Tail-flick (kuyruk çekme) yöntemi: Tail-flick yönteminin iki farklı şekli vardır. Biri kuyruğun küçük bir yüzeyine radyan ısıнын uygulanmasını içerir. Diğeriyse kuyruğun önceden belirlenmiş bir sıcaklıktaki suya daldırılmasını kapsar. Bu iki yöntem benzer görünse de fiziksel düzeyde oldukça farklılardır: kütanöz sıcaklık ilk durumda zamanın kareköküyle, ikinci durumdaysa daha hızlı biçimde değişim gösterir. Ayrıca uyarılmış yüzeyler de çok farklı olabilir⁶¹.

a) Radyan ısı kullanılarak yapılan Tail-flick testi (Resim 2): Hayvanın kuyruğuna termal radyasyon uygulanması güçlü bir hareketle kuyruğu çekmesine neden olur. Bu kaydedilen hareket reaksiyon süresidir (çoğu kez tail-flick gecikme süresi olarak adlandırılır). Reaksiyon süresi ısı kaynağının uygulanmasıyla eş zamanlı olarak zamanlayıcının başlatılmasıyla elde edilir. Bu süre genellikle 2 ila 20 sn arasındadır (sıklıkla 2 ila 4 sn), ama daha da uzun olabilir. Kuyruk çekildiği anda bir

fotoelektrik hücre zamanlayıcıyı durdurur ve lambayı kapatır. Reaksiyon süresindeki uzama analjezik aktivitenin gerçekleştiği şeklinde yorumlanır. Radyan ısıya maruziyetin 10 ila 20 s'den fazla sürdürülmesi önerilmez, aksi taktirde deri yanabilir⁶¹.

Bu yöntemin avantajları kolaylığı ve reaksiyon süresi ölçümlerinde hayvanlar arası değişkenliğinin az olmasıdır¹². Kuyruk hareketinin reaksiyon süresi radyan ısı kaynağının gücüyle ve uyarılan yüzey alanıyla değişkenlik gösterir. Yüzey alanı arttığında reaksiyon süresi düşer⁶¹.



Resim 2. Radyan ısı ile ağrı oluşturma (Kuyruk çekme, Tail-flick) yöntemi.

b) Kuyruğun sıvıya daldırılmasıyla yapılan Tail-flick testi: Bu yöntem ilk açıklanan tail-flick yönteminin farklı bir biçimidir. En belirgin fark

bu yöntemde uyarılan alanın daha büyük olmasıdır. Hayvanın kuyruğunun sıcak suya daldırılması kuyruğun ani hareketine ve bazen tüm vücudun geri çekilmesine sebep olur. Bu yöntemde de reaksiyon süresi gözlenir¹². Bu yöntem ilk yöntemden oldukça farklıdır; kuyruğun sıcak sıvıya daldırılması kuyruğun sıcaklığını hızlı bir şekilde yükseltir⁶¹.

2.3.3. Mekanik Uyarı İle Ağrı Oluşturma:

Mekanik uyaranla oluşan yanıtlar uyarının şiddeti ve/veya süresine göre derecelendirilir. Yanıt gözlenir gözlenmez uyarı durdurulur. Bu tip uyarıda düşük eşik değerli mekanoreseptörleri aktive etmek bir dezavantajdır. Ayrıca mekanik uyarıyı uygulamada, özellikle serbestçe hareket eden hayvanlarda, teknik zorluklar vardır.

2.3.4. Kimyasal Uyarı İle Ağrı Oluşturma:

Kimyasal aljezik ajanların uygulanmasını kapsayan kimyasal uyarı yavaş ya da çok yavaş bir uyarı şekli sağlar. Bu nedenle kimyasal uyarı diğer uyarı şekillerinden farklıdır; ilerleyen, daha uzun süreli ve bir kez uygulandığında önlenemez özelliktedir. Sonuç olarak primer aferent sinirlerdeki aktivitenin minimum düzeyde senkronizasyonuna ihtiyaç duyan refleksler bu uyarı ile oluşmaz⁶¹.

Writhing (kivranma) testi: Abdominal konstriksiyon olarak da adlandırılan bu test kimyasal uyaran ile oluşturulan akut viseral ağrı

modelidir⁶². Bu test kıvranmaya sebep olan iritan maddenin intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonuna dayanır ve yaygın olarak uygulanmaktadır. Kıvranma, karında kasılma, bükülme ve bedenin dönmesi, sırtın bombelenmesi ve arka ayakların uzamasını kapsar⁶³.

15 dk. boyunca farelerin test ortamına uyumu sağlanır. Stresi en aza indirmek amacıyla hayvanlar elde tutulurken özen gösterilir. Hayvanlar farklı deneysel gruplara ayrılır ve cam haznelere koyulur. Nosisseptif test için farenin karnının sol alt kadranına i.p. olarak %0.6'lık asetik asit çözeltisi (10 ml/kg) enjekte edilir. Enjeksiyon sonrasında hayvanlar hazneye geri koyulur ve devamında meydana gelen nosisseptif davranışlar gözlemlenir. Abdominal kas sistemindeki kasılmalar (kıvranmalar) enjeksiyondan sonra 0-3 ve 3-15 dakika süre ile sayılır. Fareler bir kez kullanılır ve deney sonrasında öldürülür⁶³.

2.4. İNFLAMASYON

İnflamasyon vücudun hasara cevabını oluşturan bir dizi fizyolojik olayı kapsar. Organizmada inflamasyon meydana geldiğinde anatomik olarak kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı meydana gelir; histolojik olarak inflamasyonlu bölgeye lökositlerin göçü olur. Bazı durumlarda hepsi birden gözlenir ancak hiçbirinin gerçekleşmesi zorunlu değildir⁶⁴. İnflamasyon kısa süreliyse (saatler, günler) hasarlı bölgeye nötrofil istilası olur; uzun süreliyse (haftalar, aylar) immün sistem devreye girer. İnflamasyon oluştuğunda kan damarlarının çapı ve permeabilitesi değişir ve lökositlerin kemotaktik göçü olur (Şekil 4).



Şekil 4. Doku hasarı sonrasında oluşan inflamatuvar cevap.

Periferal dokularda inflamasyon meydana geldiğinde hasarlı bölgeye toplanan endotelial hücreler, yerleşik hücreler ve lökositler tarafından birçok mediyatör üretilir. Bu mediyatörlerin çoğu (protonlar, sitokinler ve sinir büyüme faktörleri gibi) nosiseptör olarak adlandırılan özel primer aferent nöronların aktivasyonu ile ağrıya neden olur⁶⁵. Nosiseptörler noksiyus uyarıya veya sürekli olduğunda noksiyus olan uyarıya duyarlı nöronlar olarak tanımlanırlar (International Association for the Study of Pain, IASP tanımı). Nosiseptörler trigeminal ve dorsal kök ganglionlarından çıkan miyelinsiz Aδ ve C liflerine bağlıdır⁶⁵.

2.4.1. İnflamasyonda Rol Alan Mediyatörler

İnflamatuvar doku yanıtı oluşturulmasında aracılık eden kimyasal mediyatörlerden ilk keşfedilen histamin olup sayıları giderek artmaktadır. Mediyatörler, hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir. Plazmadan köken alanlar (örneğin komplemanlar) biyolojik aktivitelerini kazanmak için bir dizi proteolitik değişiklik geçirirler. Hücreden köken alanlar normalde intraselüler granüllerde (örneğin histamin mast hücrelerinde) bulunur; ihtiyaç olduğunda salınır veya bir uyarıya karşı yeniden sentez edilirler (örneğin prostaglandinler)⁶⁶. İnflamasyonda rol alan kimyasal mediyatörler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

1- Vazoaktif aminler (Histamin, Serotonin):

Histamin ve serotonin akut inflamasyonun en başında artmış permeabiliteden sorumlu mediyatörlerdir⁶⁶.

a) Histamin: Histamin en çok kan damarlarına bitişik olan bağ dokudaki mast hücrelerinde bulunur, ayrıca kandaki bazofiller ve trombositlerde saklanır. Mast hücrelerinin degranülasyonuna yol açan fiziksel uyarılar (travma gibi), mast hücrelerine antikor bağlanmasını içeren otoimmün olaylar, anafilatoksin adı verilen kompleman fragmanları, nötrofillerden salınan katyonik lizozomal proteinler ve bazı nöropeptidler aracılığı ile mast hücrelerinden histamin salınır. Histamin salınımı sonucu arteriollerde dilatasyon ve venüllerde vasküler geçirgenlik artışı meydana gelir⁶⁶.

b) Serotonin: Trombositler ve mast hücrelerinde bulunur. Trombositlerden serotonin çıkışından sonra kollajenle temas ya da antijen-antikor kompleksleri ile temastan sonra uyarılır⁶⁶.

2- Plazma proteazları:

İnflamatuvar yanıtta plazmadan kaynaklanan mediyatörlerdir⁶⁶.

a) Kininler: Bradikinin, kallikrein. Prekallikrein, Hageman faktörün (faktör 12) aktive olması ile aktif proteolitik formu olan kallikreine dönüşür. Kallikrein ise yüksek molekül ağırlıklı kininojeni (HMWK) vazoaktif etkili bradikinine dönüşür. Bradikinin arteriolar dilatasyon, endotelial hücre kontraksiyonuna (vasküler permeabilite artışına) ve cilde enjekte edildiğinde ağrıya neden olur. Kallikrein kemotaktik ve invitro olarak nötrofil agregasyonunda etkilidir. Kinin sistemde vazoaktif olan ve erken vasküler permeabilite artışından sorumlu olan bradikininidir⁶⁶.

b) Kompleman sistemi: Hem immünite hem inflamasyonda rol oynarlar. C3 aktivasyonu diğer kompleman birimleriyle etkileşimde olduğu için en kritik olaydır. Kompleman sistemin etkileri:

Vasküler etki: C3a ve C5a (antifilatoxinler) mast hücrelerinden histamin salınımını ve vasküler permeabiliteyi artırır.

Kemotaksis: C5a nötrofillerin endotele adezyonunu sağlar. Nötrofiller ve monositler için kemotaktiktir.

Fagositoz: C3b bakteriyel hücre duvarına yapıştığında opsonin olarak (lökosit ve makrofaj üzerindeki reseptörleri tanıyan moleküller) hareket eder ve fagositozu sağlar.

Lizis: C5b-9 membran atak kompleksidir. Kompleks lipid çift tabakaya tutunarak membran iyon kanalları geçirgenliğini artırır ve lizis meydana gelir⁶⁶.

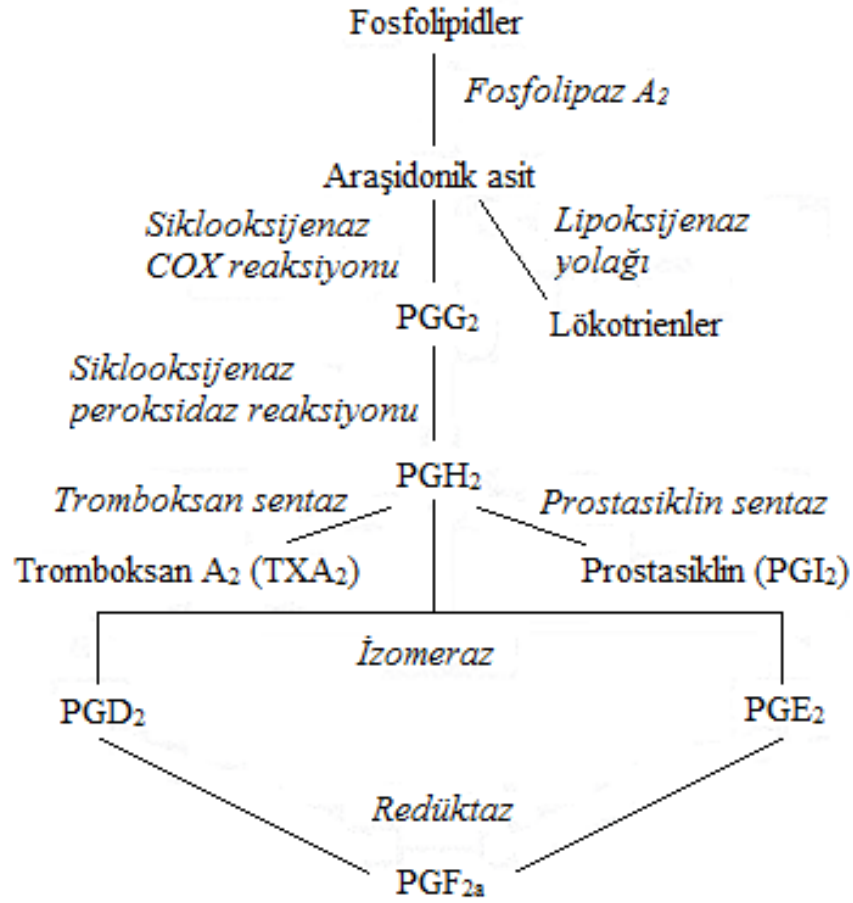
c) Koagülasyon-Fibrinolitik sistem: Fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri. Koagülasyonda Hageman faktör ile aktive edilen plazma proteinleri bulunur. Son aşamada trombin aktivasyonu ile fibrinojen fibrine döner. Bu esnada fibrinopeptidler oluşur; sonuçta vasküler permeabilitede ve kemotaksiste (lökositler için) artışa yol açarlar. Plazmin etkisiyle oluşan fibrin parçalanma ürünleri de vasküler permeabilitede artışa neden olurlar⁶⁶.

3- Araşidonik asit (AA) Metabolitleri:

İnflamatuvar stimulus veya C5a gibi mediyatörlerle fosfolipaz aktivasyonu ile membran fosfolipidlerinden açığa çıkan poliansatüre yağ asitleridir. Açığa çıkan AA aşağıdaki iki yoldan birini izler⁶⁶.

a) Siklooksijenaz yolu (Prostaglandinler, Tromboksanlar, Endoperoksitler): Siklooksijenaz enziminin 2 izoformu mevcuttur. Temel COX-1 ve indüklenabilir COX-2. Fosfolipaz A₂ ile katalizlenen prostanooidlerin biyosentezindeki ilk basamak membran fosfolipidlerinden araşidonik asit (AA) salınmasıdır. İkinci aşama siklooksijenaz aracılığıyla AA dönüşümüdür⁶⁷. COX-1 AA'ten prostaglandin G₂ (PGG₂) oluşumunu katalizler^{66,67}. Daha sonra PGG₂ peroksidaz ile PGH₂'ye döner. PGH₂ de spesifik enzimlerle daha stabil olan PGI₂ (prostasiklin), tromboksan A₂ (TXA₂), PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}'ya dönüşürler (Şekil 5). Her dokuda bu spesifik dönüştürücü enzim farklıdır. Örneğin; trombositlerde tromboksan sentaz boldur ve oluşan ürün daha çok TXA₂'dir. Kuvvetli vazokonstrüktör ve trombosit agreganıdır. Vasküler endotel ise prostasiklin sentazı bol miktarda içerir. Etkileri TXA₂'nin tam tersidir. PGE₂, PGD₂, PGF_{2α} ise vazodilatasyon ve ödem artırıcı etki gösterirler. Aspirin ve indometazin gibi non-steroidal antiinflamatuvar ajanlar siklooksijenaz enzimini inhibe ederek prostaglandin ve tromboksan sentezini inhibe ederler, fakat lipoksijenaz yolunu etkilemezler⁶⁶.

Siklooksijenaz (COX) ve sentaz tarafından araşidonik asitten sentezlenen prostaglandin (PG) E₂ (PGE₂) hem inflamatuvar mediyatör hem de fibroblast modülatör olarak rol alır. Toksik uyarının ardından cilt dokusundan salınan PGE₂ lokal ödem ve hiperaljezi oluşturur. PGE₂ romatoid artrit ve osteoartrit gibi hastalıklarda inflamasyonun lipid mediyatörüdür ve cilt inflamasyonunda da rol oynar⁶⁸.



Şekil 5. Araşidonik asit yolağı⁶⁷.

b) Lipoksijenaz yolu: Lökotrienler (LT), 5-HPETE, 5-HETE. Nötrofillerde bol olan 5-lipoksijenaz enzimiyle AA'ten HPETE ve ondan da kemotaktik olan HETE ve vazoaktif LT'ler oluşur. İlk oluşan LTA₄'tür. LTA₄ hidrolizle LTB₄ (kuvvetli kemotaktik) ve LTC₄, LTD₄, LTE₄'e dönüşür. LTB₄ nanomolar konsantrasyon seviyesinde lökositlerin, endotele yapışma ve agregasyonunu tetikleme yeteneğine sahiptir. LTB₄ akut ve kronik inflamatuvar hastalıklarda (örneğin nefrit, artrit, dermatit ve kronik obstruktif akciğer hastalıklarında) önemli rollere sahiptir⁶⁶.

4- Lökosit ürünleri:

Lizozomal proteazlar ve serbest oksijen radikalleridir. Nötrofil ve makrofajlar kemotaksi, immünokompleksler veya fagositoz ile aktive edildiklerinde lizozomal enzimleri ve serbest oksijen radikalleri salarak inflamatuvar yanıtı eşlik ederler⁶⁶.

5- Trombosit aktive eden faktör (TAF):

Trombositlerin toplanmasına ve içeriklerinin salınmasına neden olan antijenle uyarılmış nötrofil, bazofil, monosit ve çeşitli endotel hücrelerinden açığa çıkan mediyatördür. TAF ayrıca artan vasküler geçirgenliğe, lökosit toplanmasına ve adezyonuna, kemotaksise ve bir seri hemodinamik değişikliğe neden olur. Lökositler üzerine bir etkisi de PG ve LT gibi diğer mediyatörleri üretmesi ve vasküler geçirgenliği artırmasıdır⁶⁶.

6- Sitokinler:

CD4+ T lenfosit ve aktive makrofajlar gibi birçok hücre tipinden oluşan mediyatörlerdir. Sitokin sekresyonu bakteriyel ürünler, immün kompleksler, toksinler, fiziksel incinmeler ve çeşitli inflamatuvar olaylarla uyarılabilir. Polipeptid yapıdadırlar ve en önemlileri interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktör-alfadır (TNF- α). Özellikle IL-1 ve TNF- α birçok ortak biyolojik özelliğe sahiptir. İkisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar. Başlıca etkileri:

- Sistemik akut faz reaksiyonları tetikleyici etkiler: Aktive makrofajlardan salınan IL-1 ve TNF- α akut faz proteinlerinin artışı, ateş oluşumu ve iştah kaybına neden olur.

- Endotelyal etkiler: Lökosit adezyonu, prokoagülan aktivite ve TAF aktivasyonundan sorumludurlar.

- Fibroblastik etkiler: Kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonunu artırır⁶⁶.

TNF- α ve IL-8 nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olurlar. TNF- α immünoinflamatuvar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda (10^{-9} M) lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Ayrıca birçok hücre tipinde büyüme ve farklılaşmayı düzenler. Çalışmalar TNF- α 'nın akut inflamasyon ve antitümöral immünitede en önemli sitokin olduğunu göstermektedir. TNF- α aktive monositler, makrofajlar ve daha az olarak aktive T hücreler, B hücreler, mast hücreler, fibroblast, keratinosit, kupfer hücreleri, düz kas, sinoviyal örtü hücreleri ve bazofil gibi birçok hücre tipinden salgılanmaktadır. Fibroblastların ve endotel hücrelerinin TNF- α aracılıklı proliferasyonu yara iyileşmesinde önemlidir. TNF- α üretimi IL-10, TGF- β , PGE, siklosporin A, deksametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifilin tarafından inhibe edilir⁶⁶.

IL-1 başlıca antijen sunan hücreler (monosit ve makrofajlar, langerhans hücreleri, T lenfositleri) olmak üzere tüm çekirdekli hücrelerden sentezlenebilir⁶⁶. IL-1 birçok inflamatuvar olayda üretilir, inflamasyonun anahtar mediyatörüdür ve SSS aktivasyonunu indükleyebilir. Ancak bu IL-

1'in SSS üzerinde doğrudan etkisi olduğu anlamına gelmez⁶⁹. IL-1 romatoid artrit, septik şok, malignite, tüberküloz ve AIDS'de hastalığın aktivitesi ile ilişkilidir⁶⁶.

IL-1 ve IL-18 COX-2, fosfolipaz A₂ ve iNOS'un aktivatörüdür. Böylece IL-1'e maruz kalmış hücreler tarafından büyük oranda PGE₂ ve nitrik oksit (NO) üretimi meydana gelir⁶⁶.

IL-17 ise CD(+4) ve CD(+8) T lenfositler tarafından sekrete edilen bir sitokindir. Artmış IL-17 düzeylerinin solunum yolu inflamasyonu, intraperitoneal abse, romatoid artrit, psöriyazis ve multipl skleroz ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir⁶⁶.

7- Büyüme faktörleri:

Aktive olmuş makrofajlardan salınır ve etkilerini hücre membranındaki reseptörlere bağlanarak gösterirler. Epidermal büyüme faktörü (EGF) çeşitli epitel hücreleri ve fibroblastlar üzerine mitojenik etkilidir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) anjiyogeneizde mutlak gerekli bir faktördür. Trombosit kökenli büyüme faktörü (TKBF) ise daha çok aktive trombosit granüllerinden salgılanan, kemotaktik ve proliferatif etkili bir moleküldür. Transforme edici büyüme faktörü (TGF) TGF- α EGF'nin homologudur ve EGF reseptörlerine bağlanarak aynı etkileri gösterir. TGF- β ise birçok hücre tipi için büyümeyi inhibe edici etki gösterir⁶⁶.

8- Diğer mediyatörler:

a) Nitrik oksit (NO): Arjinin aminoasidinin guanido grubunda yer alan nitrojen atomu ile moleküler oksijenin reaksiyona girmesi sonucunda oluşan kısa ömürlü bir serbest radikaldir. Vasküler endotelial hücrelerde L-arjinininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından sentezlenir^{70,71}. Yapılan çalışmalar NOS'ın farklı hücre tiplerinde ve farklı hücresel koşullar altında açığa çıkan 3 tip izoformu olduğunu göstermiştir⁷⁰. Bunlar; nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenabilir NOS'tur (iNOS)^{66,70}. En son yapılan çalışmalar dördüncü bir NOS'un (mitokondriyal NOS, mtNOS) varlığını göstermektedir⁷⁰.

NOS izozimlerinin açığa çıkma şekilleri ve enzimatik aktivite özellikleri bakımından hem benzerlikleri hem farklılıkları mevcuttur. nNOS hücre iletimi için önemli olan NO üretiminde, santral ve periferik nöronlarda aktiftir⁷⁰. eNOS intraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunun artışıyla aktive olur⁷¹. Başlıca kan damarlarındaki endotel dokuda NO üretir ve açığa çıkan NO kas ve yumuşak dokuda endotelial gevşeme ve vazodilatasyon meydana getirir. iNOS başlıca immün hücreleri ve gliyal hücrelerde bulunur ve patojene yanıt olarak ve sitokin salınmasında aktive olur. iNOS'un birincil fonksiyonu patojenlere karşı savunmada NO'nin oksidatif stresini kullanmaktır⁷⁰.

NO farklı bir nörotransmitterdir çünkü bir gazdır, sinaptik keselerde durmaz ve ihtiyaç olduğunda nöronlar tarafından sentezlenir. NO'nin sinir sistem üzerinde bir çok potansiyel rolü vardır ancak bazıları hala anlaşılamamıştır⁷⁰.

NO üretimi epitel hücreleri, makrofajlar, monositler ve eozinofiller tarafından yapılır⁶⁶.

b) P maddesi: P maddesi başlıca primer aferent sinirlerin terminal uçlarında bulunur ve ağrı iletiminde primer olarak görevli kimyasal mediyatörlerdendir. Polimodal reseptörlerin enfeksiyon, basınç gibi sebeplerle uyarılmasıyla bu bilgi demiyelinize C lifleriyle kortekse taşınmakta ve ağrı olarak hissedilmektedir. Bu ağrının merkeze ulaştırılması ortodromik cevap olarak bilinir. Ortodromik cevap da kendisiyle ters yönde yani korteksten periferde doğru antidromik cevabı başlatır. Bu cevapla da P maddesi salgılanarak vazodilatasyon, salgı artışı ve nörojenik ödem meydana gelir. Temas yüzeyi artar ve daha çok P maddesi salgılanır ve hastada sürekli ağrıya neden olan kısır döngü başlar.

c) Kalpainler: Kalsiyuma bağımlı sistein proteazlar olarak bilinmektedir. Ca^{+2} mobilizasyonuna cevap olarak aktive oldukları için bu enzimlerin sinyal ileri yollarında görevli oldukları düşünülmektedir. En iyi bilinenler m kaplainler ve μ kalpainlerdir.

d) Hem Oksijenaz 1 (HO-1): Hem yıkılım yolunda etkin mikrozomal bir enzimdir. Bu yolda üretilen karbonmonoksitin (CO) hız kısıtlayıcı enzimidir. NO üretimi gibi CO üretimi de guanilat siklaz tarafından düzenlenir. Sinyal iletim yollarının düzenlenmesinde HO-1 aktivitesi veya aktivitesi sonucu ortaya çıkmış CO miktarları bu proteinin antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptotik etkilerine aracılık etmektedir.

e) Yüksek Göçlü Grup 1-Protein: İnflamatuvar ve nekrotik hücrelerden salınan bir kromatin proteindir. “High mobility group box-1” olarak bilinir ve doku hasarında sinyal vererek proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını ve stem hücrelerinin fonksiyonunu modüle eder.

Aktive edilince veya hücreden salınınca bu mediyatörlerin çoğu kimyasal değişime uğrar (örneğin araşidonik asit metabolitleri) veya enzimlerce inaktive edilirler (örneğin kininaz bradikininini inaktive eder) ve mediyatörlerin hemen hepsi hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivite gösterirler⁶⁶.

2.4.2. İnflamasyon Oluşum Mekanizmaları

İnflamasyon vücudun bir savunma mekanizması olup inflamatuvar etkeni yok etmeye, ortamdan uzaklaştırmaya, inflamasyonu sınırlandırarak hasar gören dokuyu tamir etmeye çalışmaktadır. İnflamasyon patolojisi vasküler ve hücreyel olaylar olmak üzere iki ana olayı kapsar⁶⁶.

Vasküler Olaylar

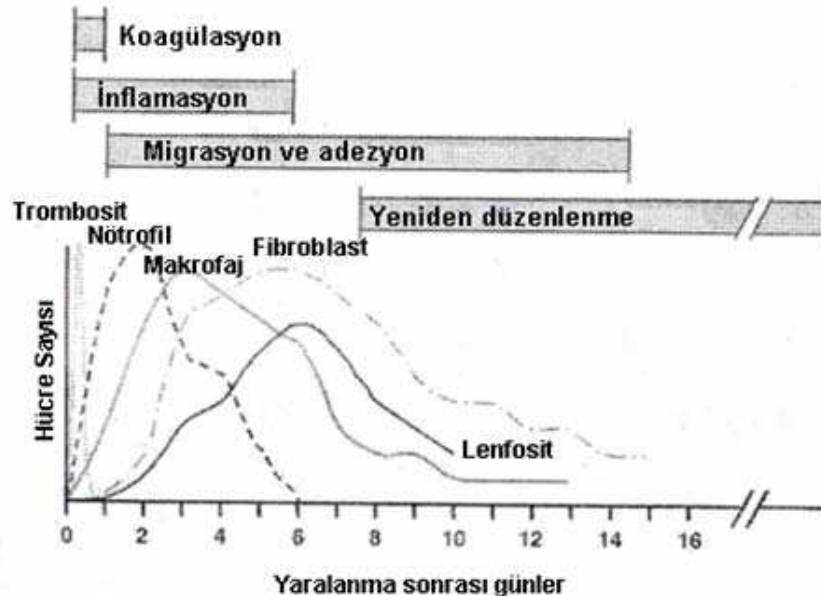
Vasküler akım ve permeabilite ile ilgili iki önemli değişiklik meydana gelmektedir⁶⁶.

a. Vasküler akım ve damar çapındaki değişiklikler:

Arteriyoller birkaç saniyelik vazodilatasyona uğrar ve erken dönemde ısı ve kızarıklığın artışına neden olur. Dolaşımdan ekstrasvasküler sıvıya protein geçişi nedeniyle eritrosit akışı yavaşlar ve nötrofiller endotel boyunca marjine olurlar. Sonra emigrasyon ile interstisyel dokuya göç ederler⁶⁶.

b. Vasküler permeabilite artışı:

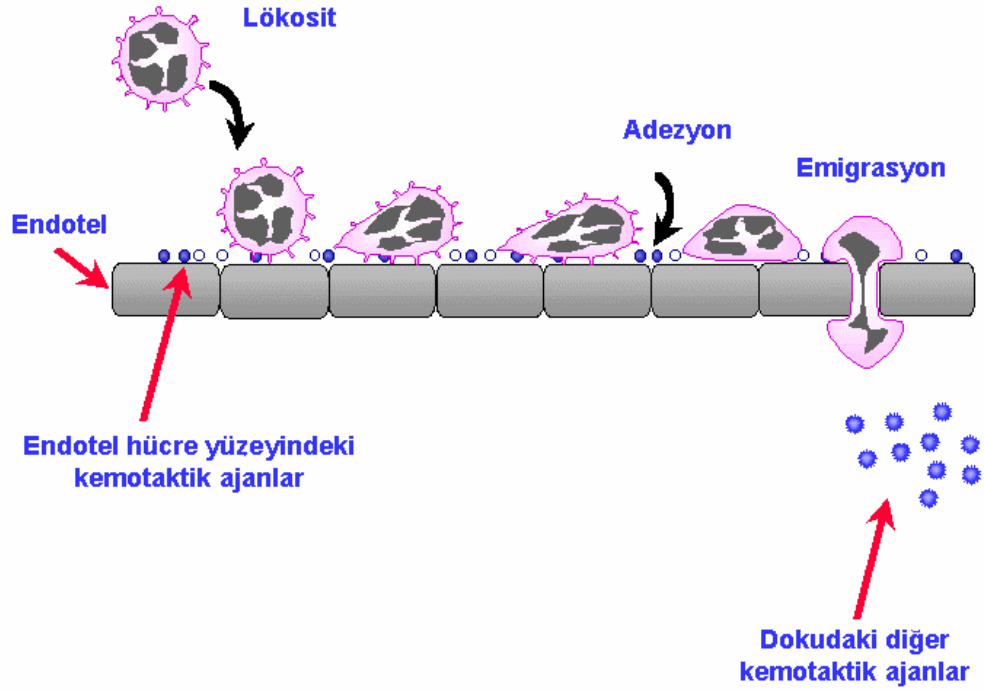
Vazodilatasyon ve artmış kan akımı intravasküler hidrostatik basıncı, bu da kapillerden sıvı filtrasyonunu artırır. Bu sıvı başlangıçta sızıntı niteliğinde olmakla birlikte kısa sürede damar geçirgenliğinin artmasıyla değişir ve proteinden zengin sıvının damar dışına çıkmasına neden olur. Sonuçta intravasküler ozmotik basınç artarak interstisyel ödeme neden olur. Bu inflamasyonun şişkinlik belirtisidir⁶⁶.



Şekil 6. Yara iyileşmesinde rol oynayan hücrelerin zamana bağlı ortaya çıkışları⁶⁶.

Hücresel olaylar

Lökositler hasarlı dokuya göç ederler. Lökosit olayları sırasıyla: a) Marjinalasyon ve yuvarlanma, b) Adezyon, c) Emigrasyon, d) Fagositoz ve intravasküler yıkım, e) Lökosit ürünlerinin ekstraselüler salınımıdır¹⁵ (Şekil 7).



Şekil 7. İnflamasyon sürecindeki lökosit olayları⁶⁶

İnflamatuvar ağrı yalnızca hafif ağırlı mekanik uyarı ya da ısı uyarısına (mekanik ya da termal hiperaljezi) artmış yanıtla karakterizedir. Doku hasarından sonra dolaşımda lokal hücreler tarafından (makrofajlar gibi) inflamatuvar mediyatörler üretilir (bradikinin gibi). İnflamatuvar yanıt hasarlı dokuya göç eden lökositler, sitokinler, kemokinler, büyüme faktörlerinin üretimi ve dokunun asitlendirilmesi ile güçlendirilir. Lökositler yalnızca hiperaljezik değil aynı zamanda analjezik mediyatörlerin de kaynağıdır. En iyi karakterize ve klinik olarak ilgili sistemler içinde endojen opioid peptidler ve reseptörler bulunur⁶⁵.

Opioid peptidler kan dolaşımında lenfosit, monosit ve granülositleri kapsayan birçok lökosit alt grubunda, iltihaplı ya da iltihapsız

lenf düğümleri ve aynı zamanda deneysel olarak uyarılmış veya klinik inflamasyon bölgesinde bulunmaktadır. Erken inflamasyonda granülositler opioid peptid üretiminin ana kaynağıdır. İnflamatuvar sürecin geç döneminde monosit ve makrofajlar opioid peptidlerin en etkili kaynağıdır⁶⁵.

Kemokinler fizyolojik ve patolojik koşullarda hücre trafiğini kontrol eden kemotaktik mediyatörlerdir. Kemokinler yalnızca farklı inflamatuvar koşullar altında önem teşkil etmezler, aynı zamanda ağrı ve analjezide de rol oynarlar. Birçok çalışma kemokinlerin hiperaljezik etkilerini incelemiş olsa da son bulgular antinosiseptif etkilerini göstermektedir. Lökosit ve endotelial hücrelerden salıverilen kemokinler moleküllerin adezyonunu dolayısıyla iltihaplı dokuya göçü artırır⁶⁵.

Lökosit göçü yalnızca kemokinler aracılığıyla değil, aynı zamanda nöropeptid gibi diğer mediyatörler aracılığıyla olur. NK₁ reseptörlerine bağlı P maddesi bu nöropeptidlerden biridir. P maddesi SSS'de ağrı iletiminde ve periferik dokulardaki nörojenik inflamasyonda rol oynayan bir mediyatör olarak tanımlanır. P maddesi ile lökosit göçündeki artış 3 farklı mekanizma ile meydana gelir: (i) monosit ve granülositler üzerine doğrudan kemotaktik etki, (ii) adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ve (iii) lokal kemokin üretiminde artış⁶⁵.

2.5. İNFLAMASYON TEDAVİSİ

Glukokortikoidler güçlü antiinflamatuvar etkinlik gösteren ajanlardır ve romatoid artriti de kapsayan birçok otoimmün ve inflamatuvar hastalıkta kullanılırlar. Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlarla yapılan tedavi ağrının kontrolü ve antiinflamatuvar aktiviteyi kapsar. Daha ciddi semptomları olan hastaların düşük dozda glukokortikoidlerle tedaviye başlanması önerilir. Yüksek dozda steroid tedavisi yaşamı tehdit eden durumlarda kullanılır⁷².

Glukokortikoidler doğrudan ya da dolaylı olarak bir kısım inflamatuvar maddelerin (fosfolipaz A₂, araşidonik asit ve metabolitleri, tümör nekroz faktör alfa, interlökin 1 ve prostaglandin E₂) sentezini ya da salıverilmesini inhibe ederler⁷³. İmmün hücreler glukokortikoidler için yüksek afiniteli reseptörler içerirler⁷⁴. Glukokortikoidlerin immün ve inflamatuvar yanıtta bir çok etkisi in vitro olarak gösterilmiş ancak klinik durum tartışmalı kalmıştır. Supra-fizyolojik dozlarda antiinflamatuvar etkileri gözlenmiştir. Glukokortikoidler lenfosit, monosit, makrofaj, eozinofil, nötrofil, mast hücreleri ve bazofil adı verilen inflamasyonun temel mediyatörlerini etkilerler. Glukokortikoid verildikten sonra dolaşımda lenfositler azalır, granülositler artar ve inflamatuvar alanlara nötrofil göçü inhibe olur. Sonuçta lokal inflamatuvar reaksiyon azalır^{75,76}.

Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar periferik etkileri ile inflamasyon ve ona bağlı oluşan ağrıyı gideren diğer ilaç grubudur. İnflamasyon sırasında indüklenen COX-2'yi inhibe ederler, yani antiinflamatuvar etkileri COX-2 inhibisyonuna bağlıdır⁷⁷. COX-2 üzerine

selektif etkinliğe sahip selekoksib ve rofekoksib bu amaçla tıbbi kullanımdadır. NSAİİ'lerin antiinflamatuvar etkinlikleri içinde ayrıca reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu azaltmaları ya da inaktive etmeleri ve iltihap hücrelerinde lizozom zarını stabilize etmeleri vardır. NSAİİ'ler genellikle asidik oldukları için inflamasyonlu dokudaki hücrelere kolayca girip birikirler⁷⁸.

Glukokortikoidler inflamatuvar kaskadda non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlardan daha yüksek düzeyde etkilidirler. NSAİİ'ler siklooksijenaz yolağını inhibe ederek prostaglandin ve tromboksan üretimini inhibe ederler ancak lipoksijenaz yolağıyla üretilen lökotrienler üzerinde etkileri bulunmaz. Diğer taraftan glukokortikoidler siklooksijenaz ve lipoksijenaz sentezi prekürsörü içeren araşidonik asit yolağını inhibe ederler⁷⁴. Bu nedenle non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların birincil etkileri olan antiinflamatuvar etkinlikleri glukokortikoidlerinkine göre daha zayıftır⁷⁹.

2.6. DENEY HAYVANLARINDA İNFLAMASYON OLUŞTURMA YÖNTEMLERİ

Antiinflamatuvar etkinliğin varlığı ve gücünün ölçümü amacıyla günümüze kadar bir çok yöntem geliştirilmiştir. Bu testler temel olarak deney hayvanının arka pençesi, kulak kepçesi, sırt altı derisi, plevra, periton ve mesane içerisine inflamasyon oluşturunca ajanın verilerek o bölgede inflamasyon oluşumunun sağlanması ve oluşan inflamasyonun antiinflamatuvar etkinliği olduğu düşünülen madde tarafından geriletilip geriletilmediğine, inflamasyon geriletilebiliyorsa bunun bilinen bir

antiinflamatuvar ajanla kıyaslanarak gücüne (potensine) bakılması esasına dayanır⁸⁰.

Antiinflamatuvar aktivite ölçümlerinde deney hayvanının pençesi kullanılacaksa genellikle sıçanlardan (rat) faydalanılır. Pençe ödemeine dair çalışmalarda daha az olarak fareler kullanılır. Antiinflamatuvar aktivite testleri için kolay temin edilmeleri sebebiyle Wistar veya Sprague-dawley cinsi sıçanlar ile Swiss albino cinsi fareler en çok kullanılan deney hayvanlarıdır. Dişi cinsiyetteki hayvanların daha fazla hormonal değişiklik göstermesi nedeniyle genellikle erkek cinsiyetteki hayvanlar tercih edilmektedir⁸⁰.

Deney hayvanlarında inflamasyon oluşturmak amacıyla kullanılan ajanlar çoğunlukla şunlardır; lambda-karagenan, bradikinin, serotonin, histamin, dekstran, formaldehit, araşidonik asit, ksilen, asetik asit, kroton yağı, PGE₁, Brewer maya solüsyonu, yumurta albümini, koton-pellet ve siklofosfamid. Bu ajanlardan en çok kullanılanı lambda-karagenandır. % 1'lik solüsyonu serum fizyolojik veya distile suda hazırlanıp hayvanın sağ arka pençesinde subplantar yoldan uygulanmaktadır. Vücut ağırlığına bakılmaksızın her hayvana aynı miktarda karagenan solüsyonu verilir⁸⁰.

Antiinflamatuvar aktivite testleri akut ve kronik inflamasyon testleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır⁸⁰.

2.6.1. Akut İnflamasyon Testleri

Sıçanlarda karagenanla oluşturulmuş pençe ödemi: Ödem ve hiperaljezi oluşturmada klasik yöntem olarak en çok tercih edilen testtir^{80,81}. Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar, selektif COX-1 ve COX-2 inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda kullanılır⁸¹. İlaçlar intraperitoneal olarak uygulandıktan belirli bir süre sonra hayvanın pençesine intraplantar olarak 0.1 mL %1'lik karagenan çözeltisi uygulanır⁸². Karagenan uygulandıktan sonra belirlenen aralıklarla pençe ödemi ölçümleri yapılır⁸¹.

Farelerde araşidonik asit gibi bir ajanla oluşturulmuş kulak kepçesi ödemi: İkinci sıklıkta kullanılan testtir.

Farelerde peritoneal damar permeabilite artışı testi: Antiinflamatuvar etkinliği olduğu düşünülen madde tarafından inflamasyona bağlı damar permeabilitesi artışının ve inflamasyonlu bölgeye makrofaj göçünün ne derecede inhibe edildiğini saptamak amacıyla yapılan bir testtir. Bu amaçla Evans blue boyası i.v. olarak hayvana uygulanır. Boyanın damarlardan periton sıvısı içine geçme derecesi spektrofotometre ile saptanır. Ayrıca bu bölgeden alınan sıvı örneklerindeki makrofajlar sayılır ve makrofaj göçüyle ilgili veri elde edilir.

Sıçanlarda karagenanla oluşturulmuş plörezi testi: Sıçanlara 3.-5. interkostal aralıktan karagenan solüsyonu enjeksiyonuyla inflamasyon oluşturulması ve inflamasyon sonucu intraplevral aralığa göçen hücrelerin alınan plevral sıvıda sayılması esasına dayanır.

Sıçanlarda siklofosfamidle oluşturulmuş hemorajik sistit testi:

Sıçanlara i.p. yolla siklofosfamid uygulanması sonucu mesane ödemi ve buradaki damarlarda permeabilite artışı meydana getirilmesi esasına dayanır.

Kabak testi: Az kullanılan bir testtir. Anesteziye edilmiş hayvanların böbrek üstü bezleri iki taraflı olarak çıkartılır. Operasyondan 18 gün sonra sıçanlarda inflamasyon yapıcı bir ajanla pençe ödemi oluşturularak antiinflamatuvar etkinlik ölçülür⁸⁰.

2.6.2. Kronik İnflamasyon Testleri

Koton-pellet aracılığıyla granülom oluşturulması testi: Kronik inflamasyon için sıkça tercih edilen bir testtir. Deney yaklaşık sekiz gün sürer. Sterilize edilmiş koton-pellet deney hayvanının interscapular bölgesi deri altı dokusuna yerleştirilir ve bir hafta sonra çıkarılır. Koton-pellet ile etrafında oluşmuş granülom dokusu birlikte 70-100°C'de kurutulur ve tartılır. Tüm çalışma gruplarında koton-pelletlerin ağırlıkları karşılaştırılarak değerlendirilir.

2.6.3. Antiinflamatuvar Etkinin Ölçümü İçin Kullanılan Cihazlar

Pençe volümünün ölçülmesi amacıyla farklı yöntemler uygulanabilir. Statham basınç transdüseri 1960'lı yıllarda kullanılmakta

olup tekrarlanabilir ve hızlı bir yöntemdir. Pletismometre ile pençe ödemi ölçümü ise günümüzde kullanılan en modern yöntemlerden biridir (Resim 3). Bu aletle yapılan ölçümlerde % 4'lük hata payı göz ardı edilebilmektedir. Deney hayvanının sağ arka pençesi antiinflamatuvar etkinlik için, sol arka pençesi ise kontrol amacıyla ölçülür. Pletismometre cihazının olmaması nedeniyle pençe volümü deney tüpü ile de ölçülebilmektedir. Bu yöntemin pletismometreye göre fazla bir dezavantajı bulunmaz. Ancak imkanlar uygunsa pletismometre ile çalışmak en uygun seçim olacaktır⁸⁰.



Resim 3. Pletismometre ile pençe ödemi ölçümü⁸³.

Pençe volümünün ölçümünde başvurulan diğer bir yöntem kompas (mikrometre) yöntemidir. Kompas yüksek hassasiyette ve kullanımı kolay bir cihazdır. Deney hayvanının pençesi alete yerleştirilir ve ibrenin gösterdiği ilk rakam kaydedilir (Resim 4).



Resim 4. Deneylerde kullanılan kompas (Peacock, 0.01mm, Ozaki Co., Japonya).

Kulak kepçesi volümünün ölçümünde ise "Oditest calipers" cihazı kullanılır. Bu cihaz ile kulak kepçesi kalınlığı 0.01 mm birim uzunlukta ölçülür. Çalışma öncesi ve sonrasında sağ ve sol kulak kalınlıkları bu cihazla ölçülerek birbirinden çıkarılır ve oluşan ödem volümü hesaplanır⁸⁰.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

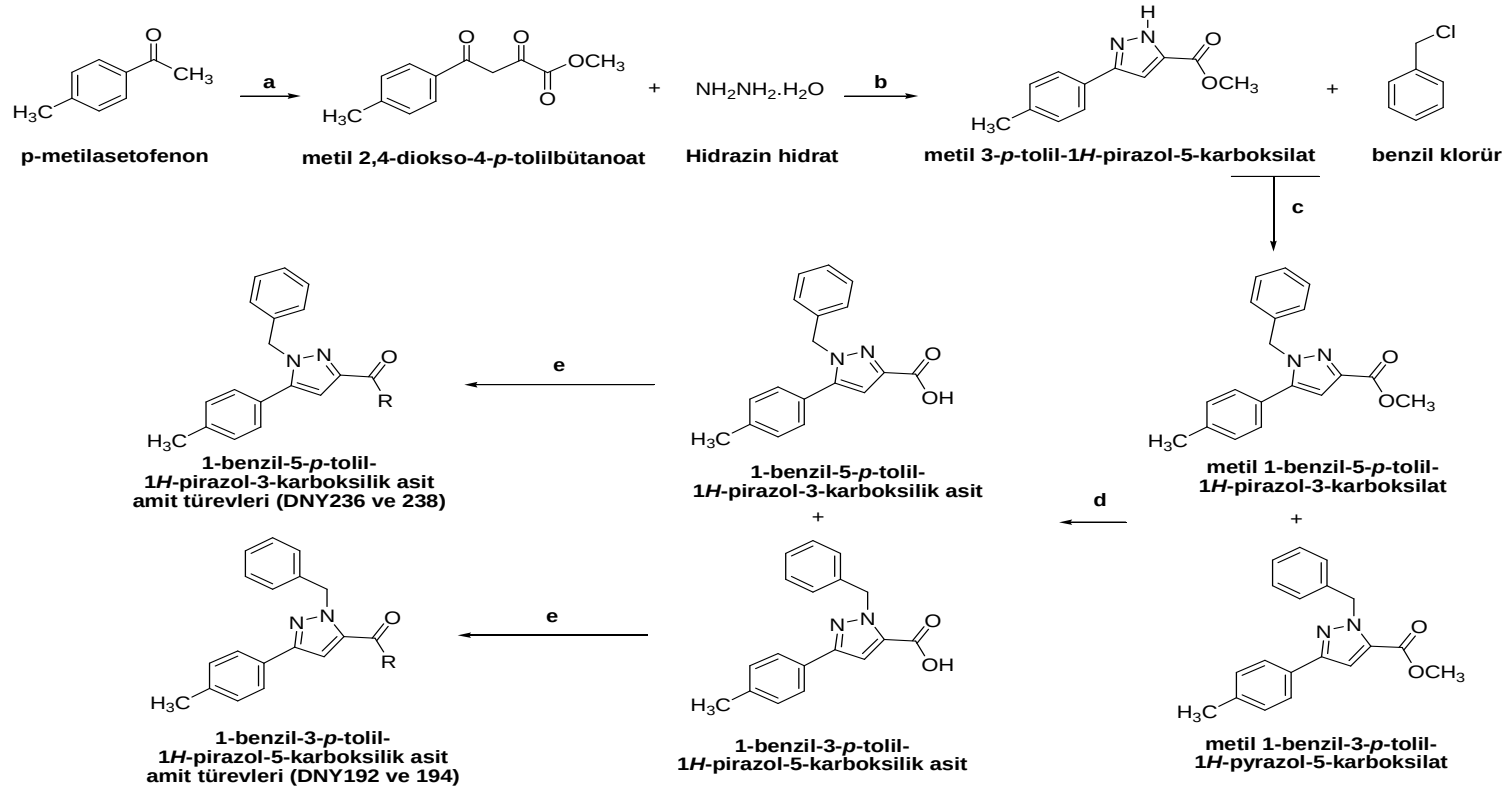
Deneylerde Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı, Serum Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen 25-35 g ağırlığında, Swiss albino erkek fareler kullanılmıştır. Deney hayvanları deneye alınmadan en az bir hafta önce sıcaklığın ($22\pm1^{\circ}\text{C}$), nemin ($\%55\pm10$) ve aydınlık periyodunun (12'şer saat aydınlık ve karanlık) ayarlandığı odalarda tutularak senkronize edilmiştir. Deney boyunca fareler standart pellet diyet ve su ile serbest olarak beslenmiştir.

Deneylerde kullanılan hayvanlar, deney süresince Gazi Üniversitesi Hayvan Etik Komisyonunun onayı (İzin No: 53-3044) ve gözlemi altında, laboratuvar hayvanlarını korumaya yönelik uluslararası etik kurallar kılavuzuna uygun olarak barındırılmış ve deney protokolleri uygulanmıştır.

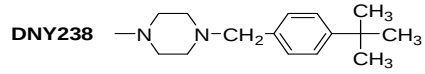
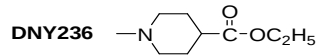
3.2. KİMYASAL MADDELER

3.2.1. Analjezik ve Antiinflamatuvar Aktivite Tayininde Kullanmak Üzere Sentezlenen Maddeler

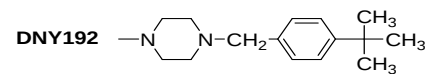
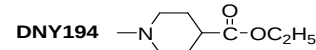
Bu çalışmada kullanılan test bileşikleri aşağıdaki şemaya göre Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda sentezlenmiş ve yapıları karakterize edilerek biyolojik aktivite deneylerine alınmıştır (Şekil 8).



1,5-substitue regioizomerik amit türevleri (R)



1,3-substitue regioizomerik amit türevleri (R)



Reaksiyon şartları:(a) *i.* sodyum bikarbonat, dimetiloksalat *ii.* hidroklorik asit (b) asetik asit, ısı (c) potasyum karbonat, asetonitril, ısı (d) *i.* flash kromatografi ile 1,3-regioisomer ayırımı *ii.* lityum hidroksit, tetrahidrofuran, su (e) EDCI, diklorometan, amin türevi, oda sıcaklığı

Şekil 8. Deneylerde kullanılan test maddelerinin (DNY 192, DNY 194, DNY 236, DNY 238) sentez basamakları.

3.2.2. Diğer Kimyasal Maddeler

Para-benzokinon (p-BK) (CAS: 106-51-4, Sigma, USA)

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

DMSO (Sigma Aldrich, USA)

Karagenan (Carrageenan, λ , Tip I, Santa Cruz, İspanya)

İndometazin (Sigma Aldrich, USA)

İbuprofen (Sigma Aldrich, USA)

Asetilsalisilik asit (ASA) (Sigma Aldrich, USA)

Distile su

3.3. ARAÇ VE GEREÇLER

Hassas terazi

Ultrasonik banyo

Vorteks

Kompas (mikrometre) 0.01mm, (Ozaki Co., Japonya)

Hamilton Enjektör (50 μ l)

Tek uçlu ve depolu otomatik pipetler

Pipet ucları

Zaman ölçer

Parafilm

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

İnsülin enjektörü

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

Plastik tüp (10 ml)

Alüminyum folyo

Plastik Eldiven

Kıvrınma sayma kabı (2X5 bölmeli)

3.4. DENEY GRUPLARI VE YÖNTEM

3.4.1. Deney Grupları

Analjezik Aktivite Deneylerinde Kullanılan Gruplar

Deneyde kullanılan test maddeleri 100mg/kg dozda subkutan (s.c.) olarak, p-BK'dan yarım saat önce verilmiştir. Analjezik aktivite deneylerinde p-BK (2.5mg/kg) i.p. olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 8 -14 fare kullanılmıştır. Referans madde olarak Asetil Salisilik Asit (ASA) kullanılmıştır.

Grup 1: DMSO (kontrol) grubu; deneylerde araştırılan test maddeleri DMSO içerisinde çözülmüştür. Bu nedenle kontrol grubu olarak DMSO (çözücü) kullanılmıştır. Ayrıca SF ile DMSO kıvranmaları arasındaki fark bulunarak delta değeri elde edilmiştir.

Grup 2: Referans madde (ASA) (100mg/kg, s.c.) grubu.

Grup 3: DNY 192 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: DNY 194 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: DNY 236 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: DNY 238 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Antiinflamatuvar Aktivite Deneylerinde Kullanılan Gruplar

Deneyde kullanılan test maddeleri 100mg/kg dozda, referans madde indometazin 10mg/kg dozda subkutan (s.c.) olarak, karagenandan yarım saat önce verilmiştir. Antiinflamatuvar aktivite deneylerinde sağ arka pençeye karagenan (25µl/pençe, %1 a/h), sol arka pençeye serum fizyolojik (%0.9 NaCl) eşit hacimlerde intraplantar olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 7-9 fare kullanılmıştır.

Grup 1: DMSO (kontrol) grubu; deneylerde araştırılan test maddeleri DMSO içerisinde çözülmüştür. Bu nedenle kontrol grubu olarak DMSO (çözücü) kullanılmıştır. Ayrıca SF ile DMSO ödem formasyonları arasındaki fark bulunarak delta değeri elde edilmiştir.

Grup 2: Referans madde (İndometazin:10mg/kg, s.c.) grubu.

Grup 3: DNY 192 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: DNY 194 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: DNY 236 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: DNY 238 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi

Analjezik aktivite tayininde, ilk defa Okun ve arkadaşları tarafından 1963'de tanımlanan ve J. Pharmacol. Exp. Ther. (139, 107-114) dergisinde yayınlanan kimyasal aljezi metodu (abdominal konstriksiyon; kıvrınma; writhing) modifiye edilerek kullanılmıştır. Farelerde aljezi oluşturmak amacı ile 2.5 mg/kg para-benzokinon (p-BK) serum fizyolojik içerisinde çözülerek intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. İntraperitoneal uygulamalarda uygulanan çözelti hacmi 0.1ml/10g vücut ağırlığı olacak şekilde ayarlanmıştır.

Kontrol ve deney gruplarına madde uygulamasından 30 dakika sonra p-BK uygulanmıştır. p-BK enjeksiyonundan 3 dakika sonra 15 dakika süre ile gözlenen kıvrınmalar sayılarak kaydedilmiştir. Kıvrınma sayıları için farelerde gözlenen başlıca davranış karakteristikleri şunlardır:

- i) Hayvanın bedenini gererek karnını konkavlaştırması
- ii) Konkav karınla bir tarafa bükülmesi
- iii) Arka ayaklarında tek veya her iki taraflı tonik ve/veya klonik gerilme, sürüklenme ve toplanma

Bu karakteristiklerin tümünün veya herhangi bir tanesinin görülmesi bir '+' olarak kabul edilmiştir. Kıvrınma sayısı üzerinde test

maddelerinin gösterdiği inhibitör etki % koruma veya % antinosiseptif aktivite olarak değerlendirilmiş ve bu yüzde değer aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Antinosiseptif aktivite (\% koruma)} = 100 - (D/K \times 100)$$

D (deney): Madde ve p-BK uygulamasından sonra gözlenen ortalama kıvranma sayısı

K (kontrol): SF ve p-BK uygulamasından sonra gözlenen ortalama kıvranma sayısı

3.4.3. Pençe Ödemi Yöntemi

Antiinflamatuvar aktivitenin belirlenebilmesi için karagenan (Tip I, λ) (25 μ l/pençe, %1 a/h), ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır. Test maddeleri ve DMSO'nun s.c. olarak uygulanmasından 30 dak. sonra, farelerin sağ ve sol pençeleri kompas (mikrometre) yardımı ile ölçülmüştür (0.01mm hassasiyet ile). Her farenin sağ pençesine subplantar olarak serum fizyolojik içerisinde taze hazırlanan karagenan süspansiyonu (0.5mg/25 μ l) enjekte edilmiştir. Her farenin kendi kontrolü için sol arka pençesine subplantar olarak 25 μ l SF enjekte edilmiştir. Karagenan enjeksiyonundan sonra 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalarda pençe kalınlıkları kompas yardımı ile ölçülmüştür. Daha sonra sağ ve sol pençeler arasındaki fark elde edilmiş, tedavi edilen grupların ortalama değerleri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ödem formasyonunda tespit edilen farklar yüzde antiinflamatuvar aktivite olarak hesaplanmıştır.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

p-BK ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde % antinosiseptif aktivite ve karagenan ile oluşturulan pençe ödemi modelinde % antiinflamatuvar aktivite ve gruplar arasındaki farklılığın bulunması:

a) Kontrol ve deney gruplarında gözlenen kıvranma sayısı ve pençe ödem miktarları ortalama $\pm$ ortalamaların standart hatası şeklinde ifade edilmiştir.

b) Kıvranma sayılarının % antinosiseptif aktivite olarak hesaplanmasında ve pençe ödemlerinde oluşan farkın % antiinflamatuvar aktivite olarak hesaplanmasında her bir bireysel hayvan değeri, ortalama kontrol değerine bölünerek hesaplanmış ve sonuçta % koruma değeri dağılımın yaygınlık ölçüsü olarak, ortalamaların standart hatası cinsinden ifade edilebilmiştir.

c) Gerek kıvranma sayıları ve gerekse % antinosiseptif aktivite ve % antiinflamatuvar aktivite değerlerinin istatistiksel anlamlılık testleri için tek yönlü ANOVA uygulanmıştır.

i) Varyans analizinde gruplar arası farklılık olduğunda (% antinosiseptif aktivitelerin karşılaştırılması) ve Barlett testi sonucu varyanslar homojen olduğunda, grupların post-hoc karşılaştırılmalarında

Student's Newman Keuls testi kullanılmıştır. $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

ii) Varyans analizinde gruplar arası farklılık olduğunda (% antinosisseptif aktivitelerin karşılaştırılması) ve Barlett testi sonucu varyanslar homojen olmadığında, grupların post-hoc karşılaştırılmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

d) Antinosisseptif aktivitelerin zamanla değişimlerinin incelendiği ve ikiden fazla değişkenin olduğu grafiklerde iki yönlü ANOVA varyans analizi uygulanmış ve post-hoc test olarak bonferroni testi uygulanmıştır.

e) Tek ve iki yönlü ANOVA analizleri ve post-hoc testler, Instat (1990-1993) V2.04a Graphpad paket programı yardımı ile çözümlenmiştir.

4. BULGULAR

Deneylerde kullanılan pirazol-3-karboksilik asit amit türevlerinin hazırlanışı ve sentez prosedürü şekil 8’de gösterilmiştir. Yapılan farmakolojik çalışmalarda sentezlenen maddelerin (DNY 192, DNY 194, DNY 236, DNY 238) ve referans maddelerin (ASA ve İndometazin) analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisiteleri (mortalite) incelenmiştir. Ayrıca farmakolojik aktivitesi yüksek olan test maddelerinin (DNY 194, DNY 236, DNY 238) daha düşük dozlarında (10mg/kg) da aktivite çalışmaları yapılmıştır.

4.1. KULLANILAN MADDELERİN OLUŞTURDUKLARI ANTİNOSESİPTİF AKTİVİTELER

DMSO’nun etkileri: Kontrol grubu olarak p-BK’dan 30 dakika önce serum fizyolojik (SF) 0,05ml/10g fare olacak şekilde subkütan verilmiştir. SF grubunda kıvranma sayıları (p-BK’dan sonra 15 dakika boyunca) 29.4 ± 2.1 (n=10) olarak bulunmuştur. Deneylerde test edilen maddelerin DMSO’da çözülmesi nedeni ile çözücünün antinosiseptif etkisi incelenmiş ve p-BK’dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde saf DMSO subkütan verilmiştir. DMSO grubunda kıvranma sayıları (p-BK’dan sonra 15 dakika boyunca) 28.1 ± 2.8 (n=14) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kontrol grubu ve DMSO (çözücü) grubu kıvranma sayıları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Bu nedenle test maddelerinin karşılaştırılması için DMSO grubu kontrol olarak değerlendirilmiştir.

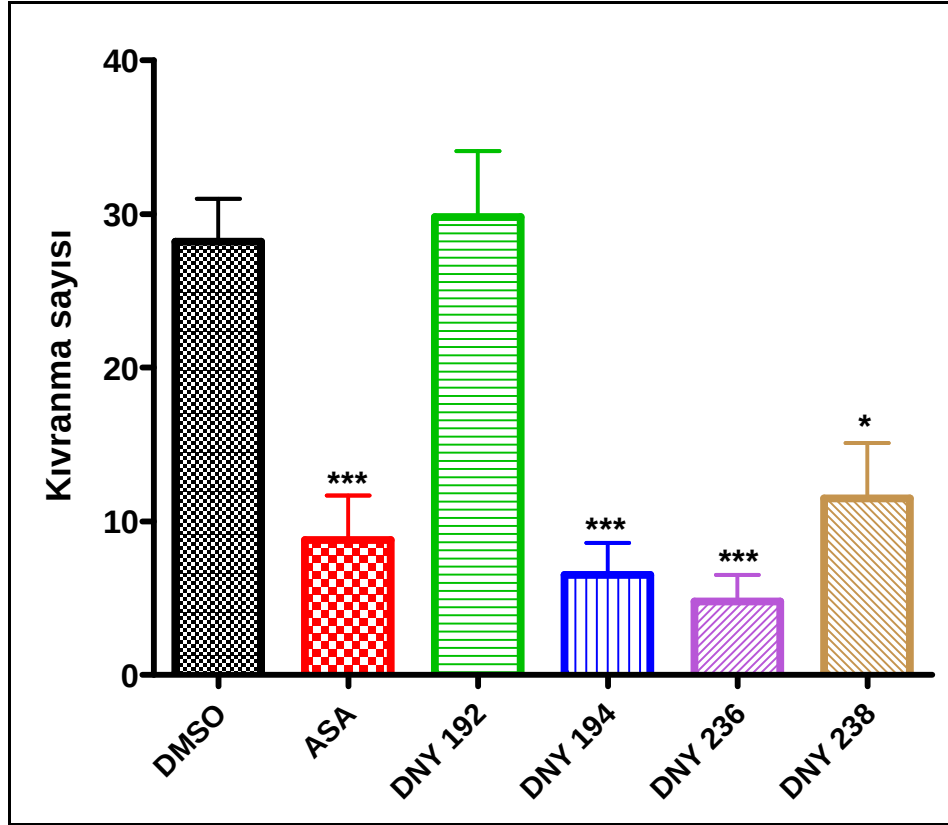
Asetil Salisilik Asit (ASA)'nın etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 100mg/kg ASA subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 8.8 ± 2.9 (n=13) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). ASA için antinosiseptif aktivite $\%67.9 \pm 6.50$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

DNY 192'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 100mg/kg DNY 192 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 29.8 ± 4.3 (n=8) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrol (DMSO)'ya göre istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). DNY 192 için antinosiseptif aktivite $\%-5.4 \pm 15.4$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

DNY 194'ün etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 100mg/kg DNY 194 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 6.5 ± 2.1 (n=10) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrol (DMSO)'ya göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). DNY 194 için antinosiseptif aktivite $\%77.0 \pm 7.4$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

DNY 236'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 100mg/kg DNY 236 subkütan verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 4.8 ± 1.7 (n=8) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,0001$). DNY 236 için antinosiseptif aktivite $\%83.2 \pm 5.9$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

DNY 238'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde 100mg/kg DNY 238 subkütan verilmiştir. Kıvranma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) $22.0 \pm 6,4$ (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 9). Kıvranma sayıları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı farklıdır ($p < 0,01$). DNY 238 için antinosiseptif aktivite $\%59.2 \pm 12.7$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).



Şekil 9. Farelerde p-BK (para-benzokinon) ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde, asetil salisilik asit (ASA) ve pirazol türevi maddelerin (100 mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvranma sayıları (Ortalama±SH, n=10-14).

* Kontrol (DMSO) grubu ile farklı (* $p < 0.01$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$).

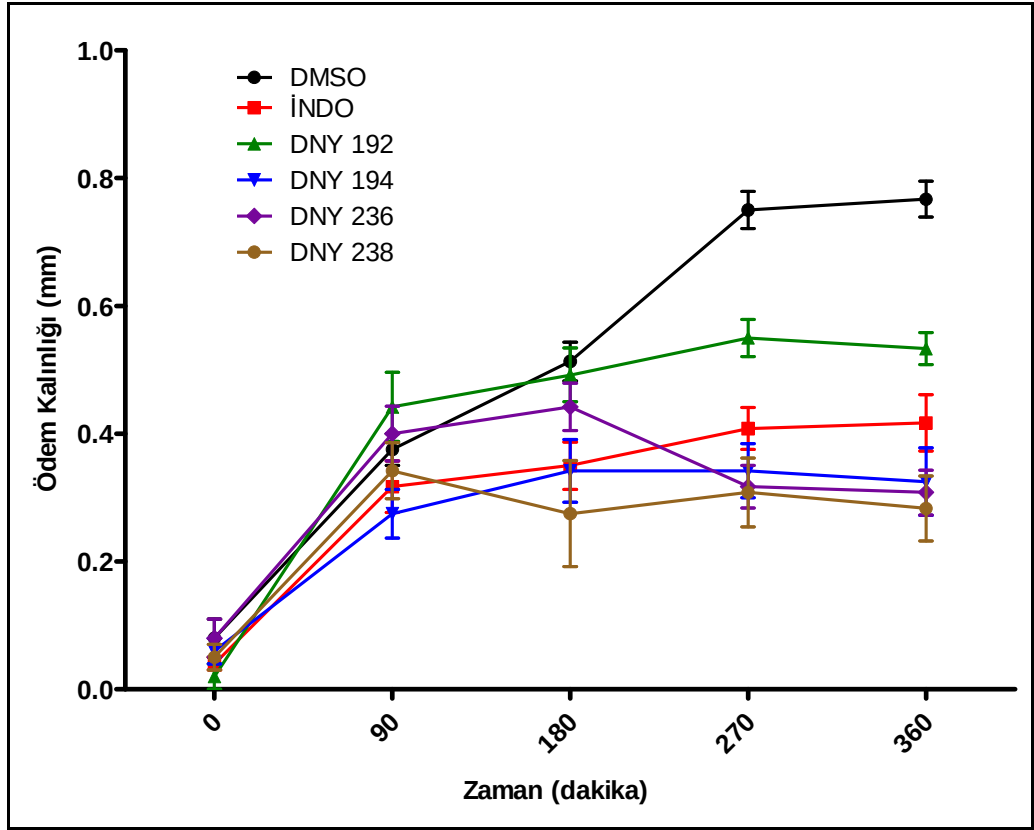
4.2. KULLANILAN MADDELERİN FARE PENÇE ÖDEMI ÜZERİNDE ETKİLERİ

Yapılan ön deneylerde test edilecek maddelerin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun karagenan (CG) (Tip I, λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h), ile pençede oluşturulan ödem üzerine etkilerini inceledik. CG'dan 30 dakika önce SF (0,05ml/10g fare, s.c.) verilen grup ile aynı şekilde ve volümde DMSO verilen grup arasında ortaya çıkan pençe ödemleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$). Test edilen maddelerin kontrolü olarak DMSO ile oluşan ödem miktarları kullanıldı. Deneylerde her farenin sağ arka pençesine verilen CG (25 μ l/pençe) ile sol arka pençesine verilen SF (25 μ l/pençe) arasındaki fark alınarak CG ile oluşan ödem miktarları bulundu.

4.2.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi

Antiinflamatuvar aktivite ölçümlerinde karagenan enjeksiyonundan sonra 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalarda oluşan ödem miktarları ölçülerek pençe ödemi oluşumunun zamana göre grafiği çıkarılmış ve özellikle lipoksijenaz ve siklooksijenaz yollarının rol aldığı inflamasyonun II. fazında test maddelerinin etkileri incelenmiştir.

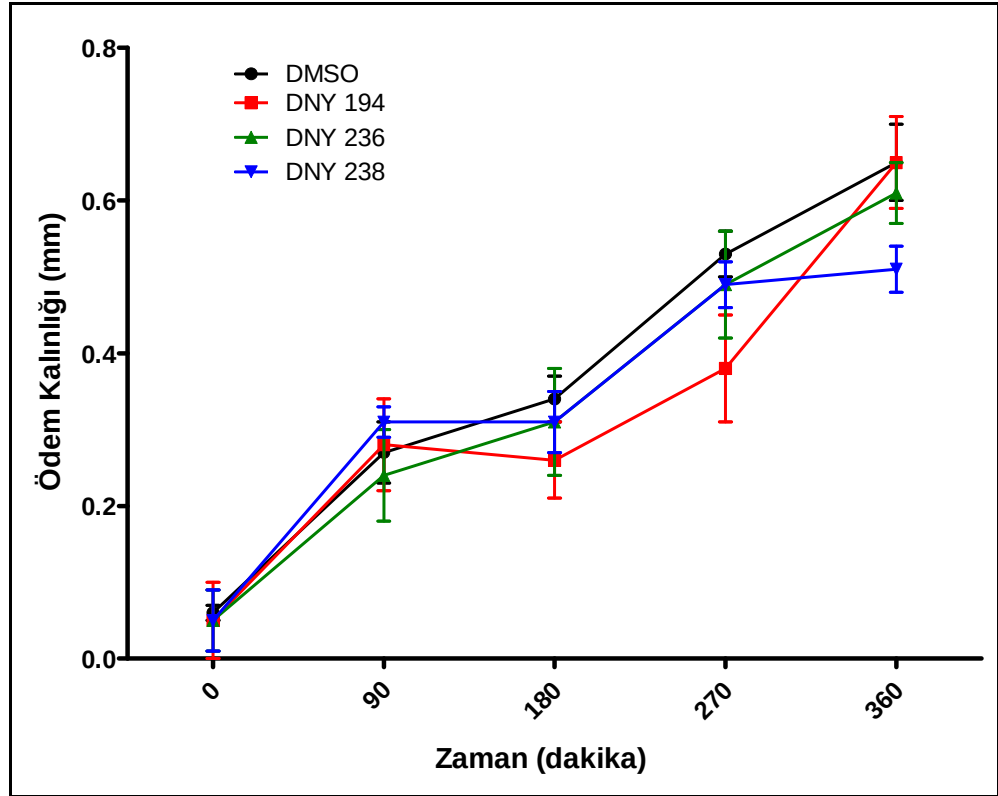
Test maddeleri ve DMSO verilen farelerde karagenan ile oluşan ödemin zamanla değişimleri şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Fare pençelerinde karagenan (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan ödemin zamanla değişimi. Sonuçlar, CG verilen sağ arka pençe ile serum fizyolojik verilen sol arka pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). İNDO; İndometazin (10mg/kg), test maddeleri DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 (100mg/kg) ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) subkütan olarak CG'dan 30 dakika önce verilmiştir.

4.2.2. Kullanılan Maddelerin Düşük Dozda Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi

DNY 194, 236 ve 238'in 10mg/kg dozda farelerde karagenan ile oluşan ödemin zamanla değişimleri şekil 11'de verilmiştir. 10mg/kg dozda verilen test maddeleri ile hiçbir zaman diliminde kontrol (DMSO)'dan istatistiksel olarak anlamlı farklı bir antiinflamatuvar aktivite gözlenmemiştir.



Şekil 11. Düşük doz test maddeleri (DNY 194, DNY 236 ve DNY 238: 10mg/kg) uygulandığında fare pençelerinde karagenan ile oluşan ödemin zamanla değişimi. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). Aynı volümde saf DMSO subkütan olarak CG'dan 30 dakika önce verilmiştir.

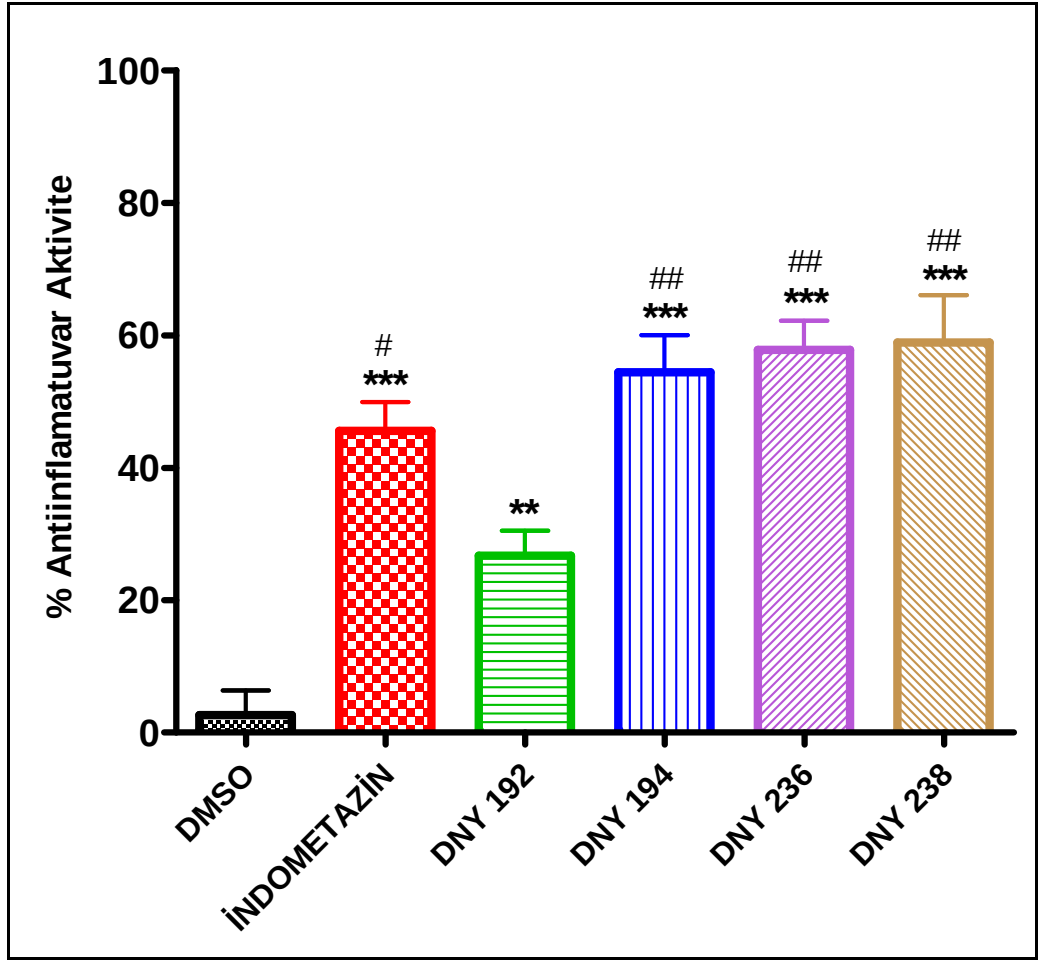
4.2.3. Kullanılan Maddelerin İnflamasyonun II. Fazında Oluşturdukları % Antiinflamatuvar Aktiviteler

Literatürle uyumlu olarak karagenan ile oluşan ödemin zamanla değişimi incelendiğinde enjeksiyondan yaklaşık dört saat sonra plato yaptığı ortaya çıkarılmıştır. Deneylerimizde, inflamasyon karakterine uygun olarak daha çok siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları ürünlerinin rol aldığı zaman dilimi olarak 270. dakika kabul edilmiştir.

Çalışmada 270. dakikada elde edilen bulgulara göre test edilen maddelerin % antiinflamatuvar aktiviteleri; DMSO için 2.60 ± 3.75 (n=12), İndometazin için 45.56 ± 4.36 (n=6), DNY 192 için 26.67 ± 3.85 (n=6), DNY 194 için 5.44 ± 5.56 (n=6), DNY 236 için 57.78 ± 4.44 (n=6) ve DNY 238 için 58.89 ± 7.18 (n=6) olarak bulunmuştur (Şekil 12, Tablo 1).

Test maddelerin % antiinflamatuvar aktiviteleri DMSO grubu ile karşılaştırıldığında tüm maddelerin istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu gözlenmiştir ($p < 0,0001$). DNY 194, DNY 236 ve DNY 238'in referans maddemiz olan indometazin (klinikte kullanılan klasik antiinflamatuvar madde) kadar hatta ondan daha fazla etkili oldukları ortaya çıkmıştır.

DNY 192 maddesi her ne kadar antiinflamatuvar aktivite göstermiş olsa da bu aktivitesi diğer test maddelerimizden ve referans maddemizden anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 12).



Şekil 12. Farede karagenan (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşturulan pençe ödeminin II. fazında (270. dakika) İndometazin (10mg/kg) ve Pirazol türevlerinin (100mg/kg, s.c.) % antiinflamatuvar aktivitelerinin Dimetil Sülfoksit (DMSO) ile karşılaştırılması (Ortalama $\pm$ SH, n=8-14). *DMSO'dan farklı (**p<0.001, ***p<0.0001), # DNY 192'den farklı (#p<0.01, ##p<0.001).

4.3. KULLANILAN MADDELERİN ÜLSEROJENİK AKTİVİTE VE AKUT TOKSİSİTE (MORTALİTE) DEĞERLERİ

Deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm farelerin mortalite kayıtları tutulmuş ve tüm maddelerin (DMSO, indometazin (10 mg/kg) DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 (100 mg/kg)) kullanılan dozlarında hiçbir ölüm vakasına rastlanmamıştır. Bu durumda mortaliteye sebep olacak akut bir etkinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

Tablo 1. Test edilen maddelerin % antinositif aktiviteleri, faz II'deki (270. dakika) antiinflamatuvar aktiviteleri ve midede ülserasyon oranları (n=6-14).

Test Maddeleri	% Analjezik aktivite	Pençe ödem kalınlığı ($\times 10^{-2}$ mm) (270. dakikada % ödem inhibisyonu)	Ülserasyon oranı
DMSO	4.42 $\pm$ 4.10	75.00 $\pm$ 2.89 (%2.60)	0/6
ASA	68.9 $\pm$ 10.1	-	4/6
İndometazin	-	40.83 $\pm$ 3.27 (%45.56)	2/6
DNY 192	-5.4 $\pm$ 15.4	55.00 $\pm$ 2.89 (%26.67)	0/6
DNY 194	77.0 $\pm$ 7.4	34.17 $\pm$ 4.17 (%54.44)	1/6
DNY 236	83.2 $\pm$ 5.9	31.67 $\pm$ 3.33 (%57.78)	1/6
DNY 238	59.2 $\pm$ 12.7	30.83 $\pm$ 5.39 (%58.89)	2/6

Deneylerde elde edilen veri ortalama $\pm$ SH olarak gösterilmiştir. Test maddeleri ve ASA 100mg/kg, indometazin ise 10mg/kg dozda, subkutan olarak p-BK veya karagenan'dan 30 dakika önce uygulanmıştır.

Analjezik aktivite deneylerinden 4 saat sonra anestezi altında tüm farelerin özefagus ve duodenumları bağlanarak mideleri 1,5ml %10 fomalın ile fikse edilmiş ve çıkartılmıştır. Işık mikroskobu altında mideler incelenerek peteşi olup olmadığına bakılmıştır. Kullanılan maddelerden indometazin (10 mg/kg) ile 2/6, ASA (100 mg/kg) ile 4/6, DNY 194 (100 mg/kg) ile 1/6, DNY 236 (100 mg/kg) ile 1/6 ve DNY 238 (100 mg/kg) ile 2/6 oranlarında peteşi gözlenmiştir (tablo 4). DNY 192 (100 mg/kg) verilen sıçanlarda herhangi bir ülserojenik aktivite gözlenmemiştir (Tablo 1).

5. TARTIŞMA

Ağrının etkeni, oluşum meknizmaları, ağrı tedavi yöntemleri ve ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar düşünüldüğünde çok geniş ve ayrıntılı bir süreç karşımıza çıkmaktadır. Ağrı tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçların NSAİİ'ler olması ağrı çalışmalarında ilgiyi bu yöne çekmiştir. Bugün kullanılan pek çok NSAİİ olmasına karşın hala daha az yan etkisi olan ve daha güçlü ağrı kesici bulma ihtiyacı devam etmektedir.

Biz bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda sentezlenen ve moleküler yapıları karakterize edilen bazı NSAİİ'lerin amit türevlerinin biyolojik aktivitelerini araştırmayı amaçladık. Analjezik ve antiinflamatuvar etkisi bilinen ve yaygın olarak kullanılan pirazol grubu ana bileşiklerden yola çıkarak daha güçlü etki profiline sahip olabileceğini düşündüğümüz pirazol-3-karboksilik asit amit türevlerinin etki taramalarını gerçekleştirdik.

Bu amaçla analjezik aktivite değerlendirmesi için farede para-benzokinon (p-BK) ile oluşturulan ağrı modeli (writhing: abdominal konstriksiyon) ve antiinflamatuvar aktivite değerlendirmesi için de farede karagenan (carrageenan: CG) ile oluşturulan pençe ödemi yöntemini uyguladık. Elde edilen bulgularla halen kullanılmakta olan NSAİİ'lerin daha güçlü ve daha az yan etkiye sahip ilaç adayı potansiyelleri olan formlarını bulmayı, ileri araştırmaların temelini oluşturabilecek sonuçlar elde etmeyi amaçladık. Bu sonuçların ağrının daha iyi tedavi edilebilmesine ve yeni alternatiflerin ortaya çıkarılmasına katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

NSAİİ'lerin amit türevlerinin iyi tolere edildiği bilinen bir gerçektir. Bu tez çalışmasında, pirazol-3-karboksilik asit genel yapısına sahip ana bileşiğin bazı amit türevlerinin sentezi Gazi Üniveristesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiş ve bu türevlerin analjezik ve antiinflamatuvar etki taramaları test edilmiştir.

Farmakolojik etki taramalarının yapıldığı bu tez kapsamı içinde araştırdığımız dört test maddesine DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 numaralı kodlar verilmiştir. Test edilen bu amit türevi maddelerin yapısal, fizikokimyasal ve diğer kimyasal özellikleri, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda yapılan ön çalışmalar ile belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında adı geçen maddelerin farmakolojik tarama ve aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu tez kapsamında DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kodlu maddelerin farmakolojik aktivitelerinin taraması yapılmış, sergiledikleri potansiyel analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisiteleri (mortalite yönünden) incelenmiştir. Analjezik aktivite taramalarında asetil salisilik asit (ASA) ve antiinflamatuvar aktivite taramalarında indometazin (İNDO) referans madde olarak kullanılmıştır.

Sentezlenen maddelerin ana bileşiğinin bir NSAİİ olması ve genel olarak bu tür ilaçlarda, hem santral hem de periferik ağrı çalışmalarında kullanılan testlerin daha sıklıkla kullanılması nedeni ile analjezik aktivite taramaları için abdominal konstriksiyon (writhing,

kıvrınma) testi tercih edilmiştir. Planlanan birden fazla aljezi modelinin (sıcak plak, tail-flick v.b.) kullanılmış olmasına rağmen sentezlenen madde miktarının azlığı ve önemli bir kısmının kimyasal analizler için kullanılmış olması, farmakolojik tarama testlerinin sınırlandırılmasını da zorunlu kılmıştır.

Kıvrınma testinde kimyasal aljezik olarak daha önce de laboratuvarlarımızda sıklıkla kullandığımız para-benzokinon (p-BK) kullanılmıştır. Farelerde yapılan ağrı çalışmalarında özellikle kıvrınma modelinde ortaya çıkabilen soy, ırk, cins ve bireysel farklılıklar sonuçların yorumlanmasında zorluk yaratmaktadır. Bu nedenle, laboratuvarımızda yapılan pek çok ağrı çalışmasında tespit edilen ve farede kıvrınma ağrı modeline en iyi cevap veren Swiss soyu albino erkek fareler deney hayvanı olarak seçilmiştir. Ayrıca deneye alınması planlanan tüm farelere çalışmaya başlamadan önce kuyruk sıkıştırma (kuyruğa damar pensi veya saç maşası takma) testi uygulanmış ve ağrı eşiği çok yüksek olan ve hipoaljezik olduğu düşünülen fareler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Test edilen DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 bileşiklerinin çözücüsü olarak DMSO kullanılmıştır. Bu nedenle ön deneylerde DMSO'nun kıvrınma testindeki etkisi incelenmiştir. DMSO'nun verildiği farelerde ortaya çıkan kıvrınma sayıları ile diğer maddelerin çözücüsü olarak kullanılan serum fizyolojik (SF) verilen farelerde oluşan kıvrınma sayıları arasında istatistiksel anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlendiğinden ($p>0.05$), tek başına DMSO'nun ortaya çıkardığı profil test maddelerinin kontrol değeri olarak kabul edilmiştir.

Analjezik aktivite taramalarında referans analjezik ilaç olarak asetil salisilik asit (ASA) seçilmiştir. Literatürde de sıkca referans madde olarak kullanılan ASA'nın gerek analjezik aktivitesi gerekse ülserojenik etkisi iyi bilinmektedir. Ağrı tedavisinde aspirin (ASA) ve parasetamol en yaygın olarak kullanılan analjezik ilaçlardır. ASA yüz yıldan daha fazla zamandır ilaç olarak kliniklerde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Aynı gruptan diğer majör ilaçlara ve indometazine göre antiinflamatuvar etkinliği daha az olmasına karşın, güçlü bir ağrı kesici etkisi vardır. Asırlardır kullanılan aspirinin özel bir önemi vardır. ASA asetil grubu (-CH₃-CO-) vericisi gibi etkir. Asetil grubu endojen bir proteinin aminoasidi üzerine (örneğin serin'in alt grubu) bağlanır. Bunun sonucunda aspirin (75-650 mg/gün) siklooksijenaz enzimini geri dönüşsüz inhibe eder ve fibrinojenin aktivitesini azaltır. Zayıf organik asit yapısında olan aspirin mide suyunun asit ortamında daha non-iyonizedir ve böylece mideden absorbe olabilir. Bundan dolayı ilaç alındıktan sonra 20 dakika gibi kısa bir süre içerisinde kandaki düzeyi, minimum etkin düzeyin üzerine çıkar ve analjezik etki başlar. Plazma yarılanma ömrü yaklaşık 15 dakika olan aspirin, kandan ve dokularda hızla asetik asit veya salisilata hidrolize olur. Aspirinin midedeki dissolüsyonunu artırmak için antasid kalsiyum, magnezyum veya alimunyum bileşiği ve/veya sodyum bikarbonat içeren tampon aspirin tabletleri geliştirilmiştir. Bu maddeler mide ve barsakta tabletin disintegrasyonu sonucu meydana gelen partiküller çevresindeki sıvı tabakasının pH'sını yükselterek dissolüsyonu hızlandırırlar ve mide suyu pH'sında belirgin bir global değişiklik yapmadıklarından absorpsiyon hızını azaltmazlar. Etki profili, etki gücü ve yan etkileri çok iyi bilinen klasik bir NSAİİ olan ASA analjezik aktivite deneylerinde sıklıkla referans madde olarak kullanılır.

Bu çalışmada ASA, kıvranma modelinde, 100 mg/kg olarak ve 0,05ml/10g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve % 68.9±10.1 antinosiseptif aktivite gösterdiği hesaplanmıştır. Bu kıvranma sayısındaki azaltıcı etki kontrol (DMSO) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,0001$).

ASA'nın yanısıra, analjezik aktivite yönünden taranan türev maddelerin tümü 100 mg/kg olarak ve 0,05ml/10g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve bu maddelerde sırasıyla, kontrole göre, DNY 192 için % -5.4±15.4, DNY 194 için % 77.0±7.4, DNY 236 için % 83.2±5.9 ve DNY 238 için %59.2±12.7 antinosiseptif aktivite bulunmuştur. DNY 192 hariç olmak üzere test edilen diğer maddelerin (DNY194, DNY 236, DNY 238) kıvranma sayıları üzerine azaltıcı etkileri kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01-0,0001$).

Kıvranma test modelinde, antinosiseptif aktivite yönünden taranan pirazol-3-karboksilik asit amit türevi DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kod adlarını taşıyan üç bileşiğin, referans bileşik olan ASA ile karşılaştırılabilir eşdeğer potent etkilere sahip oldukları bu çalışma ile gösterilmiştir. Bu bileşiklerden DNY 236'nın ASA'dan daha potent bir antinosiseptif etkiye sahip olduğu da gözlenmektedir. Bunlara ilişkin veriler de, Şekil 8 ve Tablo 4 de özetlenmektedir.

Bu çalışmada antiniflamatuvar aktivite tarama modeli olarak farede pençe ödemi modeli tercih edilmiştir. Pençe ödemi modelinde inflamatuvar ajan olarak karagenan (carrageenan: CG) kullanılmıştır.

Yapılan ön denemelerde Swiss albino erkek farelerde en iyi pençe ödemi yapan karagenanın Tip I, Lamda olduğu tesbit edilmiştir. Antinosiseptif aktivite taramalarında olduğu gibi, sentez maddelerinin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun serum fizyolojikle karşılaştırılmasında, istatistiksel anlamlı fark oluşturmadığı gözlemlendiği için ($p>0.05$) “Δ kontrol” (DMSO etkisi-SF etkisi) olarak kabul edilmiştir. İnflamasyon, 0,05ml/10g vücut ağırlığına göre, fare pençesine hafif ısıtılan %1 karagenanın (25µl/pençe hacminde) subplantar enjeksiyonu ile oluşturulmuştur. Pençelere karagenan ve SF enjeksiyonları hamilton şırınga ile uygulanmıştır.

Fare pençe ödemi modelinde yapılan antiinflamatuvar aktivite taramalarında, DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kod numarasını taşıyan pirazol-3-karboksilik asit amit türevleri (100 mg/kg), çözücülerini olan DMSO ile birlikte indometazine (10 mg/kg) karşı test edilmiştir.

İnflamatuvar prosesin bifazik yanıt gösterdiği dikkate alınarak, özellikle siklooksijenaz ve lipoksijenaz yollarının, faz II inflamatuvar yanıtın gerçekleşmesindeki önemli rol nedeni ile, tüm bileşiklerin karagenan enjeksiyonundan sonra oluşturdukları antiinflamatuvar aktivite 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalar bakımından izlenmiş ve tüm test maddeleri ve referans maddesinin pençe ödemi üzerine etkisinin zaman garfiği çıkartılmıştır. İnflamasyonun II. fazı olarak ödem oluşumunun plato yaptığı 270. dakika faz II % antiinflamatuvar aktivite değerlendirmeleri için kullanılmıştır (Şekil 10).

İnflamasyonun II. fazında (270. dakika) referans madde indometazin ve test edilen pirazol-3-karboksilik asit amit türevlerinin oluşturdukları etkiler (ödem kalınlığı $\times 10^{-2}$ mm ve % antiinflamatuvar aktivite) sırasıyla şöyledir; indometazin için; 40.83 ± 3.27 (%45.56), DNY 192 için; 55.00 ± 2.89 (%26.67), DNY 194 için; 34.17 ± 4.17 (%54.44), DNY 236 için; 31.67 ± 3.33 (%57.78) ve DNY 238 için; 30.83 ± 5.39 (%58.89). Bu sonuçlara ilişkin veriler Şekil 12 ve Tablo 1’de verilmiştir.

Test edilen bileşiklerin antiinflamatuvar aktivite profillerine bakıldığında indometazin gibi, 100mg/kg doza denk düşen hacimlerde uygulanan amit türevi maddelerden DNY 194, DNY 236 ve DNY 238’in fare pençe ödemi, kontrol maddesi olan DMSO’ya göre güçlü şekilde istatistiksel anlamlı ($p < 0.0001$) olarak inhibe etmiştir (Şekil 12). DNY 192 maddesinin antiinflamatuvar aktivitesi diğerlerine göre daha az görünmesine rağmen ($p < 0.01$) tüm test maddelerinin relatif etkinlik olarak indometazine benzer potense sahip oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 12).

Bu çalışmada analjezik ve antiinflamatuvar aktivite taraması yapılan ve hem analjezik hem de antiinflamatuvar güçlü etki elde edilen üç maddenin düşük dozlarda etkisi de incelenmiştir. Bu amaçla DNY 194, DNY 236 ve DNY 238’in 10mg/kg dozları da pençe ödemi modelinde çalışılmış ve ödem-zaman grafiği çıkarılmıştır (Şekil 11). Kullanılan düşük dozda bu üç maddenin tüm zaman noktalarında kontrole göre istatistiksel anlamlı bir antiinflamatuvar etkisi gözlenmemiştir.

İndometazin ve incelenen tüm türev maddelerin gerek akut toksisite ve mortalite ve gerekse ülserojenik etki bakımından

incelenmesinde, 100 mg/kg dozlarda herhangi bir mortalite oluşturmadiğı ve kullanılan maddelerden sadece ASA'nın ciddi ülserojenik aktivite gösterdiği, test maddelerinin ise indometazin benzeri bir ülserojeniteye sahip oldukları gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 1'de özetlenmektedir. Test edilen maddelerle indometazinin ülserojenik aktivite bakımından benzer bir profil göstermeleri, bileşiklerin relatif eşit etkin antiinflamatuvar aktiviteye sahip olmaları bakımından anlam içermektedir. İndometazine göre daha güçlü antiinflamatuvar aktivite ve daha az gastrointestinal yan etki, ilaç adayı bir molekül beklentisi olarak önem taşımaktadır. Ancak bu çalışmada tüm maddelerin subkutan olarak kullanılması nedeni ile elde edilen bu bulgunun yeterli olmadığı düşünülerek ayrıca aynı maddelerin peroral verilerek tekrar ülserojenik aktivitelerinin incelenmesi çalışmanın devamında yapılması planlanmıştır

Bu tez çalışması kapsamında incelenen DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kod numarasını taşıyan pirazol-3-karboksilik asit amit türevlerinin tamamının antiinflamatuvar farmakodinamik ön taramaları üzerinde ileri çalışma yapılmasına değer olduklarına işaret etmektedir; buna karşın analjezik aktivite bakımından da benzeri özelliğe sahip olan bileşikler her iki aktivite profili bakımından da benzerlik gösteren DNY 194, DNY 236, DNY 238'dir.

Bu tez çalışmasında ilaç adayı olabilecek moleküllerin sentezlenebilmesi ve farmakolojik aktivite taramalarının yapılması disiplinler arası ortak çalışma açısından önem arz etmektedir. Deneylerde sentez edilen maddelerin miktar kısıtı, farmakodinamik tarama testlerinin de en önemli sınırlayıcı faktörü olmuştur. Tarama testlerinin büyük miktarda deney hayvanı sayısına gereksinim gösterdiği bilinen bir

konudur. Bu bağlamda hayvan deneyi ile yapılan tarama testlerinden önce test edilecek maddelerin in vitro olarak enzim aktiviteleri IC50 düzeyleri, stabilite testleri gibi mümkün olan tüm yönlerden incelenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada da mümkün olan in vitro testler yapılmıştır (data gösterilmedi).

Sonuç olarak; yapılan bu tez çalışmasında ilaç adayı olabilecek dört yeni molekülün taramalarından elde edilen verilerin bir başlangıç verisi olarak kabulü ve buna göre yüksek aktivite gösteren bileşiklerin farmakodinamik profillerine ilişkin ileri ve kapsamlı ortak çalışmaların sürdürülmesi gerekli görülmektedir. İncelenen bileşiklerin içinden ilaç adayı bileşiklere dair önemli ön bulguların ortaya çıkarılmış olması kayda değerdir. Bu bulguların literatüre önemli katkı sağlayacağı anlaşılmaktadır.

6. SONUÇ

Klasik NSAİİ'lerin yan etkilerinin fazla olması nedeni ile haa daha iyi etki gücü olan ve daha az yan etkiye sahip ilaç bulma çalışmaları tüm dünyada devam etmektedir. Bu tez çalışmasında sıklıkla kullanılan ve etki profili iyi bilinen NSAİİ'lerden yola çıkarak, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda pirazol-3-karboksilik asit ana molekülünün amit türevleri sentezlenmiş ve Farmakoloji Anabilim Dalı'nda DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 olarak kod numarası verilen bu maddelerin analjezik, antiinflamatuvar aktivite taramaları yapılmıştır.

NSAİİ olarak kullanılan bir ana bileşiğin kullanıldığı bu çalışmada elde edilen amit türevlerinin daha etkili ve daha az toksik olabileceği düşüncesi ile in vitro taramaları tamamlanan test maddeleri para-benzokinon ile oluşturulan kimyasal ağrı modelinde analjezik aktivite taramaları yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında incelenen bazı türev bileşiklerle elde edilen veriye göre özellikle üç amit türevinin kıvranma modelinde ASA gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. ASA'ya benzer etki gösteren DNY 194, DNY 236 ve DNY 238'in ASA ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Aynı zamanda, karagenan ile oluşturulan fare pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar aktivite taramaları gerçekleştirilen DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kodlu maddelerin tamamının önemli antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları ve birer ilaç adayı olabilecekleri gözlenmiştir.

7. ÖZET

Akut ve kronik ağrı sendromlarında ağrının semptomatik kontrolü için analjezikler kullanılır². Analjezikler tüm dünyada en yaygın kullanılan ilaçlar arasındadır ve farmakolojik açıdan opioidler ve opioid olmayanlar (NSAİİ) şeklinde iki temel sınıfa ayrılırlar^{2,4}. Opiodlerin yan etkilerinden dolayı şiddetli olmayan akut ve kronik nosiseptif ağrılarda non-steroid antiinflatuvar ilaçlar (NSAİİ) daha fazla tercih edilmektedirler. Son yıllarda NSAİİ'lerin ester ve amit türevleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Üzerinde çalışılan moleküllerin daha fazla antiinflatuvar aktiviteye ve daha az gastrointestinal yan etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda klasik NSAİİ'lerden yola çıkarak pirazol-3-karboksilik asit ana molekülünün amit türevleri sentezlenmiş ve Farmakoloji Anabilimdalı'nda DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 olarak kod numarası verilen bu maddelerin analjezik, antiinflatuvar aktivite taramaları yapılmıştır.

Tez çalışması kapsamında incelenen bileşiklerle elde edilen veriye göre özellikle üç amit türevinin kıvranma modelinde ASA gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. ASA'ya benzer etki gösteren DNY 194 ve DNY 236 ve DNY 238'in ASA ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Aynı zamanda, karagenan ile oluşturulan fare pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar aktivite taramaları gerçekleştirilen DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238 kodlu maddelerin tamamının önemli antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları ve birer ilaç adayı olabilecekleri gözlenmiştir.

8. SUMMARY

Analgesics are used for the symptomatic control of acute and chronic pain syndromes². They are one of the most common drugs in all over the world and are classified into two groups as opioids and non-opioids (NSAIDs) pharmacologically^{2,4}. In mild acute and chronic nociceptive pains, are mostly preferred because of the side effects of opioids. Recently, many studies have been done with the ester and amide derivatives of NSAIDs. These molecules are believed to have more anti-inflammatory activity and less gastrointestinal side effects.

In this thesis, amide derivatives of pyrrazole-3-carboxylic acide were synthesized in Pharmaceutical Chemistry Department of Pharmacy Faculty of Gazi University and with the code names as DNY 192, DNY 194, DNY 236 ve DNY 238, analgesic and anti-inflammatory activities of these molecules were scanned in Pharmacology Department laboratories.

As the result, especially in DNY 194, DNY 236 and DNY 238 groups potent antinociceptive activity of the amide derivatives were determined in writing models. In fact, the potencies of these activities were found as equal with ASA relatively.

After that antiinflammatory activities of these substances were studied in the carragennan mice paw edema experimental model

and anti-inflammatory activity was determined in all of the four derivatives. Consequently, these derivatives may be drug candidates in the future.

9. KAYNAKLAR

1. Doksat K. Ağrı ve Psikiyatri. Psikiyatri Dünyası 1999;1:23-31.
2. Babacan A., Çizmeci P. Analjezik ve Analjezik Kullanım İlkeleri. Clinic Medicine, 2007 Mayıs; ISSN: 1306-2123. URL adresi: http://medya-tower.com/index.php?option=com_content&task=blogcategory&id=14&Itemid=27
3. Koleva D., Krulichova I., Berolini G., Caimi V., Garattini L. et al. Pain in primary care: An Italian survey. European Journal of Public Health, 2005; 15(5):475-479.
4. Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji, 11. Baskı, Ankara, Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti.; 2005.
5. Ostensen ME., Skomsvoll JF. et al. Anti-inflammatory pharmacotherapy during pregnancy. Expert Opin Pharmacother, 2004; 5(3):571-80.
6. Rossi S. (Ed.) Australian Medicines Handbook, ed. 3, ISBN: 0-9757919-2-3. Adelaide, 2006.
7. Thomas MC. Diuretics, ACE inhibitors and NSAIDs – the triple whammy. Med J Aust 2000; 172:184-185.
8. Bombardier C., Laine L., Reicin A., Shapiro D., Burgos-Vargas R., Davis B., et al. Romatoid artritli hastalarda rofekoksib ve naproksenin

- gastrointestinal toksisite üzerine etkisinin karşılaştırılması. N Engl J Med 2000; 343(21):1520-1528.
9. Chandrasekharan NV., Dai H., Roos KL., Evanson NK., Tomsik J., Elton TS., Simmons DL. et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:139-26-31.
 10. Moore DE. Drug-induced cutaneous photosensitivity. Drug Safety 2002; 25:345-372.
 11. Önal A., Algoloji. 1. Basım, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi, 2004.
 12. Brooks J., Tracey I. et al. From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. J. Anat. 2005; 19-33.
 13. Erdine S. Ağrı mekanizmaları, Alemdar Ofset, 1. Basım, İstanbul; 2000.
 14. St. John Smith E., R. Lewin GR. et al. Nociceptors: a phylogenetic view. J Comp Physiol A, 2009; 195: 1089-1106.
 15. Goebel JR., Doering LV., Lorenz KA., Maliski SL., Nyamathi AM., Evangelista LS. et al. Caring for Special Populations: Total Pain Theory in Advanced Heart Failure: Applications to Research and Practice. Nurs Forum, 2009; 44(3):175-185.
 16. Marazziti D., Mungai D, Vivarelli L, Presta S., Dell Oso. B. et al. Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health. Clinical Practice

and Epidemiology in Mental Health, 2006; 2:31, doi: 10.1186/1745-0179-2-31.

17. Heavner J. Ağrı Mekanizması: Klinik Pratik İçin Bilimsel Temeller. İç. Rejyonel Anestezi (Ed. Erdine S.), 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2005.
18. Erdine S. Ağrı Sendromları ve Tedavisi, Genişletilmiş 2. Baskı, İstanbul, Gizben Matbaacılık, 2003.
19. Erdine S. Ağrı Sendromları ve Tedavisi, 3. Baskı, İstanbul, Gizben Matbaacılık, 2003.
20. Erdine S. Ağrı Sendromları ve Tedavisi, Genişletilmiş 1. Baskı, Gizben Matbaacılık, İstanbul, 2003.
21. Erdine S. Ağrı Tedavisi El Kitabı, Güneş Tıp Yayınları, 2. Baskı, İstanbul, 2006.
22. Köknel TG. Ağrılı hastanın değerlendirilmesi. İç. Ağrı (Ed. Erdine S.), 3. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
23. Gökçe-Kutsal Y. Analjezik ve antiinflamatuvar ilaçların akılcı kullanımı. Ankara, Ankara Tabip Odası Yayınları, 1999.
24. Erdine S. Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım. İç. Ağrı (Ed. Erdine S.), 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.

25. Costigan M., Scholz J., Woolf C.J. et al. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annu Rev Neurosci.* 2009; 32:1-32.
26. Wall PD., Melzack R., Textbook of Pain. 3. edition, Churchill Livingstone, London, 1994.
27. Yegül İ. Sempatik sinir blokları. İç. Ağrı (Ed. Erdine S.) 3. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007.
28. Özyalçın NS. Kronik ağrıda radyofrekans termokoagülasyon (RF) uygulamaları. İç. Ağrı (Ed. Erdine S.) 3.baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.
29. Besson JM., Chaoucha A. et al. Peripheral and spinal mechanism of nociception. *Physiol Rev.*, 1987; 67:67-186.
30. Raj PP. Practical Management of Pain, 2. edition, St. Louis, Mosby Year Book, 1992.
31. Lušić I. Central Pain: Mechanisms, Semiology and Treatment, *Medical Sciences*, 2009; 33:79-91.
32. Urban MO., Gebhart GF. et al. Central mechanisms in pain. *Med Clin North Am.* 1999; 83(3):585-596.
33. Bishop B. Pain: Its Physiology and Rationale for Management, Part I. Neuroanatomical Substrate of Pain, *Physical Therapy*, 1979; 60:13-20.

- 34.Erdine S. Ağrı Nörofizyolojisi. İç. Ağrı (Ed. Erdine S.), 2. Baskı, İstanbul, Nobel Kitapevi, 1987.
- 35.Erdine S. Sinir Blokları, 2. Baskı, İstanbul, Emre Matbaacılık, 1993.
- 36.The Journal of International Association for the Study of Pain. Pain Supplement 3, Classification of Chronic Pain, 1986. URL: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=4988592>
- 37.Güzeldemir ME. Kanser Ağrısı Tedavisinde Temel Yaklaşımlar, GATA Bülteni. 1995; 37:394-400.
- 38.Jones SS. Anatomy of Pain, Acute Pain Mechanisms and Management, (Ed. Sinatra RS., Hord AL., Ginsberg B., Pereble LM.), St.Louis, Missouri, Mosby Year Book, 1992.
- 39.Borsook D., Lebel A.A., McPeck B. The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management, 1. Edition, Boston New York Toronto London, Little, Brown and Company, 1996.
- 40.Ertekin C. Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi, Ağrı ve Tedavisi (Ed. Yegül İ.), 2 baskı, İzmir, Yapım Matbaacılık, 1993.
- 41.Collins JV. Principles of Anesthesiology. 3. Edition, Malvern, Pennsylvania, Lea & Febiger, 1993.
- 42.Kayaalp S.A. Narkotik (Opioid) Analjezikler Tıbbi Farmakoloji, 5. Baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık, 1990.

- 43.Matzke HA., Foltz FM. Nöroanatomi. (Çev. Zileli T., Balkan S.), 2. Baskı, Ankara, H.Ü. Yayınları, 1980.
- 44.Mirzaoğlu ZZ. Postoperatif Analjezi. GATA Anesteziyoloji ABD, Seminer Notu, 1999.
- 45.Wall PD. Ağrı mekanizması. Ağrıda Multidisipliner Yaklaşımlar (Ed. Serdar Erdine) IV. Ulusal Ağrı Kongresi Konuşmaları, İstanbul, 1993.
- 46.Winans SS., Gilman S. Klinik Nöroanatomi ve Nörofizyoloji (Çev. Zileli T., Baysal AH.), 4. Baskı, Ankara, H.Ü. Yayınları, 1985.
- 47.Güzeldemir ME. Postoperatif Ağrı Tedavisi. GATA Bülteni, 1996; 38:273-77.
- 48.Y. İbrahim. Farelerde Dipirone Karşı Gelişen Analjezik Toleransta Nitrik Oksidin Rolü. Yüksek Lisans Tezi. Edirne, Trakya Üniversitesi, 2008.
- 49.Wall PD. The Effect of Peripheral Injury on Cells in the Spinal Cord, Textbook of Pain (Ed .PD. Wall, Melzack R.), London, Churchill Livingstone, 1989.
- 50.Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 2. cilt, 12. baskı, Ankara, Feryal Matbaacılık San. Tic. Ltd.Sti. 2009.
- 51.Erdine S., Ağrı ve analjezikler, Fersa Matbaacılık, 2. Baskı, Ankara, 2007.
- 52.Hasçelik Z. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar. Sted 2011, Ocak URL: <http://www.ttb.org.tr/STED/sted0101/5.html>

- 53.Yazıcı H. Nonsteroidal Antiinflamatuvar (NSAİ) İlaçlar ve "Lüsyen Hanım Sendromu". İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Akılcı İlaç Kullanımı Sempozyumu 1999; 87-95.
- 54.Green GA. Understanding NSAIDS: from aspirin to COX-2. Clin Cornerstone 2002; 3:50-59.
- 55.Trevor AJ., Katzung BG., Masters SB. Katzung's and Trevor's Pharmacology, Examination and Board Review. 6. Edition, New York McGraw-Hill, Lange Medical Books, 2002.
- 56.Cervera R., Balasch J. et al. The management of pregnant patients with antiphospholipid syndrome. Lupus 2004; 13(9):683-687.
- 57.Graham GG., Scott KF., Day RO. Tolerability of paracetamol. Drug Saf 2005; 28(3):227-240.
- 58.Güzeldemir ME. Kanser Ağrısı: Tanımı, Nedenleri, Tedavide Temel Yaklaşımlar, GATA Bülteni, 1995; 37:401-405.
- 59.Erdine S. Akut Ağrı İlkeleri (Hekimler için hızlı başvuru rehberi)(Çeviri), Abdi İbrahim İlaç San. Ve Tic. A.Ş, 2003.
- 60.Gürkan Kİ. Pratik Cerrahi I. Cilt, III. Baskı, İstanbul, İstanbul Üniv. Yayınları No.1058, İsmail Akgün Matbaası, 1964.
- 61.Le Bars D., Gozariu M., Cadden SW. et al. Animal Models of Nociception. Pharmacol Rev 2001; 53:597-652.

62. Miranda HF., Pinardi G. et al. Lack of effect of naltrexone on the spinal synergism between morphine and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Pharmacological Reports*, 2009; 61:268-274.
63. Marcil J., Walczak JS., Guindon J., Ngoc AH., Lu S., Beaulieu P. et al. Antinociceptive effects of tetrodotoxin (TTX) in rodents. *British Journal of Anaesthesia* 2006; 96 (6):761-8.
64. Süzer Ö. Nonsteroidal Antiinflatuvar İlaçların Farmakolojisi (internette) 2009 URL: www.onersuzer.com.
65. Rittner HL., Brack A., Stein C. et al. Pain and the immune system. *British Journal of Anaesthesia* 2008; 101 (1):40-44.
66. Kuralay F., Çavdar Z. İnflamatuvar mediyatörlerine toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg* 2006; 16(3):143-152.
67. Süleyman H., Demircan B., Karagöz Y. et al. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacological Reports*, 2007; 59:247-258.
68. Su W., Cheng M., Lee W., Tsou T., Chang W., Chen C., Wang P. et al. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for Wounds: Pain Relief or Excessice Scar Formation? *Mediators of Inflammation*, 2010; 56:28-45.
69. Hopkins SJ. Central nervous system recognition of peripheral inflammation: a neural, hormonal collaboration. *Acta Biomed*, 2007; 78:231-247.

70. Knott AB., Bossy-Wetzel E. et al. Nitric Oxide in Health and Disease of the Nervous System. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2009; 11(3):541-553.
71. Hirata Y., Nagata D., Suzuki E., Nishimatsu H., Suzuki J., Nagai R. et al. Diagnosis and Treatment of Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Disease. *Int Heart*, 2010; 51:1-6.
72. Prigent H., Maxime V., Annane D. et al. Clinical Review: Corticotherapy in sepsis. *Critical Care* 2004; 8(2):122-129.
73. Beishuzien A., Thijs LG., Hanen C., Vermez I. et al. Macrophage migration inhibitory factor and hypothalamopituitary-adrenal function during critical illness. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:2811-2816.
74. Briegel J., Kellermann W., Forst H., Haller M., Bittl M., Hoffmann G., Buchler M., Uhl W., Peter K. et al. Low dose hydrocortisone infusion attenuates the systemic inflammatory response syndrome. The phospholipase A2 study group. *Clin Invest* 1994; 72:782-787.
75. Soni A., Pepper GM., Wyrwinski PM., Ramirez N., Simon R., Pina T., Gruenspan H., Vaca CE. et al. Adrenal insufficiency occurring during septic shock: incidence, outcome, and relationship to peripheral cytokine levels. *Am J Med* 1995; 98:266-271.
76. Rosen J., Miner JN. et al. The Search for Safer Glucocorticoid Receptor Ligands. *Endocrine Reviews*, 2005; 26(3):452-464.
77. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 10. baskı Ankara, Hacettepe-Tas Kitapçılık Ltd. Sti., 2002.

- 78.Katzung BG. Basic & Clinical Pharmacology. 8. edition, New York, McGraw-Hill, Lange Medical Books, 2001.
- 79.McLain RF., Kapural L., Mekhail NA. et al. Epidural steroids for back and leg pain: Mechanism of action and efficacy. Cleveland Clinic Journal of Medicine, 2004; 71(12):961-970.
- 80.Özbek H., Öztürk A. et al. Antiinflatuvar Etkinliğin Ölçülmesinde Kullanılan yöntemler. Van Tıp Derg. 2003; 10(1):23-28.
- 81.Goncalves DO., Calou IBF., Siqueira RP., Lopes AA., Leal LKA., Brito GAC., Tome AR., Viana GSB. et al. In vivo and in vitro anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of lovastatin in rodents. Braz. J. Med. Biol. Res., 2011; 44(2):173-181.
- 82.Karakaş Ö., Canbay Ö., Çelebi N., Şahin A., Karagöz A. H., İskit A. B., Aypar Ü. et al. Sıçanlarda İnflamasyon ve Mekanik Hiperljezi Modelinde Lornoksikam ve Ketaminin Etkileri. Türk Anest Rean Der Dergisi 2007: 35(4);227-234.
- 83.Ugo Basile North America (online) 2008-2011 (cited 2005 Kasım 3) URL: <http://www.ugobasileusa.com/uploads/ds7140.pdf>.

10.1. ETİK KURUL İZNİ



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

23.02/2010

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/53-3044
KONU:

Sıyın

Doç.Dr.Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-10.023 kod numaralı ve "*Bazı Nonsteroidal Antiienflamatuvar İlaçların Ester ve Amid Türevlerinin Sentezi, Analjezik ve Antiienflamatuvar Aktivitelerinin İncelenmesi Üzerinde Çalışmalar*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-10.023 and entitled "*Studies on the Synthesis of Ester and Amide Derivatives of Some Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Evaluation of their Analgesic and Antiinflammatory Activities*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards,


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul 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,

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkı sağlayan, tüm çalışmalarım sırasında gösterdiği anlayış, verdiği emek ve destek için değerli hocam Yrd. Doç. Dr. M. Orhan ULUDAĞ'a,

Tez çalışmalarım kapsamında sürdürdüğüm deneylerim için verdiği emek ve destek için sayın Prof. Dr. Erden BANOĞLU'ya,

Tez çalışmalarım sırasında verdikleri destek ve yardımları için tez çalışmalarımı beraber yürüttüğüm sevgili arkadaşlarım Ecz. G. Sibel ARKUN ve Ecz. İlker Evren'e,

Laboratuvar çalışmalarım ve tez yazım aşamam sırasında desteklerini esirgemeyen ve büyük emek veren sevgili arkadaşlarım H. Nilüfer ERCAN, Ecz. Khatereh FATTAHPOUR, ve Uzm. Ecz. Sevtap HAN'a

Laboratuvar deneylerime çok büyük katkısı bulunan, çalışmalarım sırasında verdiği emek ve yardımı için sevgili Hacer Şirin'e

Her zaman yanımda olan ve desteğini hissettiren aileme,

Saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Duygu Aslı

Soyadı Alkan

Doğum Yeri ve Tarihi Muş 10.12.1985

Eğitimi Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji
A.B.D. (2008-2011)
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2003-2008)
Dr. Binnaz Ege Dr. Rıdvan Ege Anadolu Lisesi
(1999-2003)

Dil İngilizce