

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

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. İLKER EVREN

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 ESTER TÜREVLERİNİN
ANALJEZİK VE ANTİİNFLAMATUVAR ETKİ TARAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. İLKER EVREN

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 yürütölmüş
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	V
Tablolar	VII
Kısaltmalar	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Ağrı	3
2.1.1. Nosisepsiyon	4
2.1.2. Ağrı Çeşitleri ve Sınıflandırılması	7
2.1.3. Ağrının Periferik Mekanizmaları	12
2.1.4. Santral Ağrı Mekanizmaları	15
2.1.5. Ağrı yolları	20
2.1.6. Ağrı Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	27
2.2. Deney Hayvanlarında Ağrı Oluşturma Yöntemleri	31
2.2.1. Termal Ağrı Yöntemleri	32
2.2.2. Mekanik Ağrı Yöntemleri	35
2.2.3. Kimyasal Ağrı Yöntemleri	36
2.3. İnflamasyon	37
2.3.1 İnflamasyon Oluşum Mekanizmaları	39
2.3.1.1. İnflamasyonda Rol Alan Mediyatörler	42
2.3.1.2. Arakidonik Asit Ürünleri ve İnflamasyon	45
2.3.2. İnflamasyon Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM	51
3.1. Deney Hayvanları	51
3.2. Kimyasal Maddeler	52

3.2.1. Analjezik ve antiinflamatuvar aktivite tayininde kullanmak üzere sentezlenen maddeler	52
3.2.2. Diğer Kimyasal Maddeler	54
3.3. Araç ve Gereçler	54
3.4. Deney Grupları ve Yöntem	55
3.4.1. Deney Grupları	55
3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi	57
3.4.3. Pençe Ödemi Yöntemi	58
3.5. İstatistiksel Analiz	59
4. BULGULAR	61
4.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları % Antinosiseptif Aktiviteleri	61
4.2. Kullanılan Maddelerin Fare Pençe Ödemi Üzerinde Etkileri	64
4.2.1. Kullanılan Maddelerin Oluşturdukları Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi	64
4.2.1.1. DNY 214'ün Oluşturduğu Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi ve Kontrolle Karşılaştırılması	65
4.2.1.2. DNY 218'in Oluşturduğu Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi ve Kontrolle Karşılaştırılması	66
4.2.1.3. DNY 230'un Oluşturduğu Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi ve Kontrolle Karşılaştırılması	67
4.2.1.4. DNY 232'nin Oluşturduğu Pençe Ödeminin Zamanla Değişimi ve Kontrolle Karşılaştırılması	68
4.2.2. Kullanılan Maddelerin İnflamasyonun II. Fazında Oluşturdukları %Antiinflamatuvar Aktiviteler	69
4.2.3. Kullanılan Maddelerin Ülserojenik Aktivite ve Akut Toksosite Değerleri	71
5. TARTIŞMA	73
6. SONUÇ	80

7. ÖZET	81
8. SUMMARY	83
9. KAYNAKLAR	85
10. EKLER	100
10.1. Etik Kurul Onayı	100
10.2. Teşekkür	101
11. ÖZGEÇMİŞ	102

ŞEKİLLER

Şekil 1. Nosiseptif yolaktaki modölatör transmitterler.	19
Şekil 2. Ağrı yolları ve nosisepsiyon.	26
Şekil 3. NSAİ kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması.	28
Şekil 4. Tail flick test düzeneği	33
Şekil 5. Hot plate test düzeneği	34
Şekil 6. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolları.	49
Şekil 7. Deneylerde kullanılan test maddelerinin (DNY 214, DNY 218, DNY 230, DNY 232) sentez basamakları.	57
Şekil 8. Farelerde p-BK (parabenzokinon) ile oluşturulan kıvrınma aljezi modelinde, asetil salisilik asit (ASA) ve test maddelerinin (100mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvrınma sayıları (Ortalama±SH, n=10-14).	63
Şekil 9. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ, 25µl/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 214 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi.	65
Şekil 10. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ, 25µl/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 218 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi.	66

Şekil 11. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 230 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi. 67

Şekil 12. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 232 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi. 68

Şekil 13. Farede karagenin (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 aktiviteleri. 70

TABLÖLAR

Tablo 1. Periferel duyarlılıkta oluşan nöroaktif substantlar.	13
Tablo 2. Sinir liflerinin çeşitleri ve fonksiyonları.	16
Tablo 3. Test edilen maddelerin % antinosiseptif aktiviteleri, faz II'deki (270. dakika) % antiinflamatuvar aktiviteleri ve midede ülserasyon oranları (n=6-14).	71

KISALTMALAR

5-HT	: Alfa adrenerjik serotonin
AA	: Arakidonik asit
cAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
COX	: Siklooksijenaz
CNS	: Santral sinir sistemi
CGRP	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DRG	: Dorsal Kök gangliyonu
EAA	: Eksitatör aminoasit
GABA	: Gama amino bütirik asit
HETE	: Hidroeikozatetraenoikasit
HMWK	: Yüksek molekül ağırlıklı kininogen
HPETE	: Hidroperoksieikozatetraenoikasit
IASP	: Uluslar arası ağrı çalışma derneği
IgE	: İmmünglobilin E
NMDA	: N-metil D-aspartik asit
Non-NMDA	: Non N-metil D-aspartik asit
NSAİİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
p-BK	: Parabenzokinon
PAG	: Periaquaduktal gri alan
PG	: Prostaglandin
PGI₂	: Prostatiklin
PAF	: Platelet aktive edici faktör
SF	: Serum fizyolojik
STY	: Spinotalamik yolak
TAF	: Trombosit aktive edici faktör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
WDR	: Wide dynamic range

1. GİRİŞ

İnsanlığın var oluşundan beri ağrı ve ağrının tedavi edilmesi insanoğlu için önemli bir uğraşı alanı olmuştur. Eski yazıtlardan elde edilen bilgiler doğrultusunda eski medeniyetler her ne kadar ağrının bir çeşit büyü, delilik olduğunu düşünsede ağrının nedenini araştırmayı bırakmamışlardır. Bilim ve bilimsel yöntemlerin gelişmesine paralel olarak ağrı mekanizmalarının anlaşılması, araştırmacıların en büyük ilgi alanlarından biri olmaya devam etmektedir¹.

Ağrı gelişen dünyada en geniş sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bu problem yetişkin popülasyonun yaklaşık %20'sini etkilerken, etkilenenlerin pekçoğu kadınlar ve yaşlılardır².

Ağrının modülasyonunda birçok farmakolojik mekanizmalar vardır³. Ağrı oluşum ve iletim mekanizmaları, ağrının algılanması ve engellenmesi karmaşık periferik ve santral mekanizmalardan oluşmaktadır^{4,5,6}. Ağrı duysal ve duygusal boyutların her ikisini birden içerir ve genellikle ağrı olduğunda ağrıyı sonlandırmak, azaltmak ve ağrıdan kaçmak isteğiyle beraber gelişir⁷.

Ağrıyı sonlandırmak için günümüzde ağrı kesici olarak opioid ve opioid olmayan ilaçlar kullanılmaktadır⁸. Opioidlerin güçlü etkinliklerine karşın, solunum depresyonu, konstipasyon gibi kullanımını kısıtlayan ciddi yan etkilerinin olması ve etkilerine tolerans gelişmesi gibi nedenlerden dolayı yeni ilaç araştırma çabaları halen hızla devam etmektedir. Opioidlerin yan etkilerinden dolayı şiddetli olmayan akut ve kronik

nosiseptif ağrılarda non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) daha fazla tercih edilmektedirler^{5,9,10}. Son yıllarda NSAİİ'lerin ester ve amit türevleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Üzerinde çalışılan moleküllerin daha fazla antiinflamatuvar aktiviteye ve daha az gastrointestinal yan etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda sentezlenerek yapı aktiviteleri araştırılan moleküllerden yeni bir ağrı kesici ilaç adayı olabilecek bazı pirazol-3-karboksilik asit ester türevlerini inceledik.

Fareler üzerinde para-benzokinon (p-BK) ile oluşturduğumuz akut ağrı modeli (writhing, abdominal konstriksiyon) yöntemiyle yeni sentezlenmiş dört molekülün analjezik etkilerini ve karagenin (carrageenan: CG) ile oluşturulan pençe ödemi yöntemiyle fareler üzerindeki antiinflamatuvar etkilerini inceledik. Elde ettiğimiz sonuçların bu moleküllerin ağrı tedavisinde yeni ilaçlar olarak kullanılması konusunda literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AĞRI

Ağrı Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain) tarafından “var olan veya olası bir doku hasarı ile bağlantılı hoş olmayan duysal ve emosyonel deneyim” olarak tanımlanmıştır¹¹. Bu tanımlamaya göre ağrı, doku hasarı ile ilişkili duysal ve duygusal boyutları beraberinde içeren subjektif bir deneyimdir¹². Kesin sayılar tam belli olmamasına rağmen dünyada milyonlarca insanın bu acıyı tecrübe ettiği tahmin edilmektedir¹³.

Ağrı; homeostazisten sorumlu kontrol grubunun bir bileşeni olan ve yüksek oranda gelişmiş canlılarda bulunan noziseptif sistemin oluşturduğu bir algıdır. Bu bağlamda ağrı, organizmayı korumak için yardım rolüne sahip bir alarm oluşturur ki, ağrı etkenini azaltmak için reaksiyonları tetikler ve öğrenilmiş sakınma davranışlarını indükler¹⁴.

Ağrıyı daha iyi tanımlamak ve anlayabilmek için bazı ilgili terimler aşağıda tanımlanmıştır.

Allodini: Genellikle ağrılı olmayan bir stimülusun ağrı şeklinde hissedilmesi.

Analjezi: Ağrılı (noxious) stimülasyonun oluşturduğu ağrının yokluğu, olmaması şeklindedir.

Kozalji: Travmaya bağlı oluşan sinir lezyonundan sonra ortaya çıkan yanıcı ağrı. İlgili bölgede en ufak dokunuşlar bile ağrı oluşturmaktadır.

Disestezi: Hoş olmayan (istenmeyen) anormal duyu algılanmasıdır.

Parestezi: Herhangi bir uyarı olmaksızın spontan olarak ortaya çıkan anormal, iğnelenme, karıncalanma şeklinde duyu algılanması.

Hiperaljezi: Ağrılı (noxious) stimlusa karşı duyarlılığın ve cevabın artması.

Hiperestezi: Stimlasyona karşı duyarlılığın artması. Sensoriyal liflerin aşırı duyarlılaşması.

Hipoaljezi: Ağrılı stimlusa karşı duyarlılığın ve cevabın azalması.

Hipoestezi: Stimlasyona karşı duyarlılığın azalması.

Nralji: Bir sinire yayılan ağrı, genellikle tekrarlayıcı, şiddetli niteliktedir.

Noxious: Doku hasarı oluşturan stimlus.

Ağrı eşiği: Kişide ağrıya neden olan en kşk stimlusun şiddeti (bireysel farklılık gösterir).

2.1.1. Nosisepsiyon

20. yüzyılın başlarında Sherrington (1910) ağrı kavramını geliştirdi ve “nosisepsiyon” (nociception) terimini ortaya koydu. Latince nocere kelimesi “incitmek, hasar vermek” anlamında kullanılmaktadır¹⁴. Nosisepsiyon: A delta ve C sinir lifleri ile bağlantılı özelleşmiş transdüserler tarafından doku hasarının algılanmasıdır. Bu transdüserler, yakın çevresindeki inflamasyon ve sinirsel değişimlere etki gsterebilir¹².

Bir başka deyişle insanlarda, sıçanlarda ve diğer omurgalılarda nosisepsiyon, özelleşmiş kütanöz reseptörler tarafından doku hasarının fizyolojik olarak algılanmasıdır¹⁵. Tüm nosisseptör aracılı uyarılar ağrı oluşturmaya rağmen oluşan tüm ağrılar nosisepsiyon anlamına gelmez¹⁶.

Ağrının algılanması periferdeki primer afferent ağrı reseptörlerinin uyarılması ile başlar. Ağrılı termal, kimyasal veya mekanik uyarılar, omuriliğin dorsal boynuzundaki ilk sinaptik alana bilgiyi taşıyan derideki nosisseptörleri aktive eder¹⁵. Ağrıyı algılayan bu reseptörlere “nosisseptör” adı verilir¹⁷. Bir başka deyişle nosisseptörler, ağrılı iletiyi fark eden, birincil nosisseptif afferent lifler, çoğunlukla A-delta ve C sinir lifleri olmakla beraber, ağrılı ileti bilgisini omuriliğin dorsal boynuzuna ileten, periferik sinir sisteminde özelleşmiş reseptörlerdir¹⁸. Periferik terminalleri ağrılı uyarılar için hassas olan, primer aferent ve tüm deri, deri altı dokularında bulunan serbest sinir uçlarıdır¹⁹. Nosisseptif uçlar çeşitli farklı dokuları innerve eder. Somatik ve visseral yapıların içerdiği kornea, dişeti, kaslar, eklemler, solunum sistemi, kardiyovasküler sistem, sindirim sistemi, ürogenital sistem, menenjerlerde ve deride bulunurlar¹⁸.

Nosisseptörler mekanik tipi uyarılarla uyarılırlar ayrıca, bazı endojen allogenik maddeler (P maddesi, histamin, bradikinin, lökotrienler, prostaglandinler, protonlar, interlökinler, TNF- α , kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP)) adı verilen biyokimyasal maddelerle duyarlılaşabilir veya uyarılabilirler²⁰. Nosisseptif reseptörler vücuda büyük ölçüde dağılmış serbest sinir uçlarıdır. Bu serbest sinir uçları zararlı uyarılara yanıt verir ve bu bilgiyi afferent (duyusal) lifler aracılığıyla santral sinir sistemine iletir²¹. Nosisseptif reseptörler kimsayal mekanik ve termal sinyallerle eşleşebilir. Örneğin; TRPV1 adında bir membran reseptörünün sıcaklıkla oluşan

ağrıya cevap verdiği düşünülmektedir. İlginç olarak aynı reseptör kapsaisin tarafından da uyarılmaktadır¹⁸.

Kimyasal reseptörler, mekanik reseptörler ve termal reseptörler olmak üzere üç çeşit nosiseptif reseptör vardır.

Kimyasal reseptörler: yabancı kimyasallarla (arı sokması veya ısırğanotu ile temas gibi) uyarılabilirler. Ayrıca vücudun kendi kimyasalları da bu reseptörleri uyarabilir. Doku kesildiğinde veya yandığında histamin, serotonin, potasyum iyonu ve asetilkolin gibi çeşitli kimyasallar salıverilir.

Mekanik reseptörler: çarpma veya sıkışma gibi doğrudan mekanik bir basınca veya doku ödemi veya inflamasyonu sonucundaki basınca cevap verirler.

Termal reseptörler: aşırı sıcak veya soğuk ile uyarılırlar²¹.

Ağrının oluşumu, iletimi, algılanması ve engellenmesi birçok sayıda karmaşık santral ve periferik mekanizmalara bağlıdır ve beraberinde birçok endojen nörotransmitter ve reseptörler bu süreç içerisinde görev almaktadır^{6,22}. Arka boynuzdaki ağrı sürecinde bazı nörotransmitterlerin ve nöromodülatörlerin önemi büyüktür. Bir çok küçük lifler, aspartat, glutamat ve nöropeptidler (P maddesi, kalsitonin geni ile ilgili peptid, kolesistokinin, galanin, somastatin vb.) gibi eksitatör aminoasitleri içerir^{23,24}. Eksitatör aminoasit olan glutamat ve aspartat asıl

olarak arka boynuzdaki ağrı iletiminde görev alırlar. Hem küçük çaplı ve hem de geniş primer afferent liflerde bulunan eksitatör aminoasitler, eklem inflamasyonunda kronik veya akut nosiseptif uyarı sonucu A-beta sinir liflerince aktive edilen düşük akımlı elektrik uyarısı ile salınırlar. Eksitatör amino asit reseptörlerinin, N-metil D-aspartat (NMDA) ve non-NMDA reseptörleri adı altında, çoğunlukla postsinaptik ve dorsal boynuz hücrelerinde bulunan alt tipleri bulunmaktadır^{25,26}. NMDA ve non-NMDA reseptörleri glutamat reseptörleri opioid (μ), gaba, serotonin ve adenosin reseptörleri, primer afferentlerden salgılanan P maddesi, nörokinin A, CGRP gibi peptitler de nosiseptif transmisyon ya da modülasyonda rol alırlar. Bunlar arasından adenosin reseptörleri arka boynuzdaki nosiseptif aktivite üzerinde etkilidirler ve aktiviteyi artırır. A₁ reseptörleri ve A₂ reseptörleri mekanizma olarak birbirine zıt çalışırlar. A₁ reseptörleri adenilat siklazı inhibe ederken antinoseptif etki sağlanır, A₂ reseptörleri adenilat siklazı aktive ederler²⁷. Yine yapılan bazı çalışmalarda NMDA ve non-NMDA reseptör agonistlerinin intratekal olarak uygulanmasında nosiseptif davranış gözlenmiştir^{28,29}.

2.1.2. Ağrı Çeşitleri ve Sınıflandırması

Ağrının karakteristiğini tanımlamak için, akut ağrı, sürekli ağrı, kronik ağrı, nöropatik ağrı, nosiseptif ağrı, inflamatuvar ağrı, viseral ağrı ve somatik ağrı gibi çeşitli terimler kullanılmaktadır. Bu terimler ağrı oluşumunda farklı anatomik ve nörobiyolojik yapıların olduğu fikrini desteklemektedir¹¹.

Ağrıyı süresine, kaynaklandığı bölgeye, mekanizmalarına göre çeşitli biçimlerde sınıflandırmak mümkündür^{17,30,31}.

Süresine Göre Ağrı

Akut Ağrı: varolan bir yara ve lokal doku hasarı bulunan alanda nosiseptif transdüserlerin aktivasyonu ile ortaya çıkar. Akut ağrı daima, nosiseptif nitelikte olmakla beraber, neden olan lezyon ile ağrı arasında zaman, yer ve şiddet bakımından yakın bir ilişki vardır³¹. Bölgesel hasar nosiseptörlerin cevap karakteristiğini, santral bağlantılarını ve bölgedeki otonomik sinir sistemini değiştirir ancak vücudun iyileşme mekanizmalarını etkisiz hale getirme⁴.

Akut ağrılarda yetersiz tedavi, sıklıkla tedavisi daha zor olan kronik ağrıya öncülük eder³². Dubner ve Ruda büyük nosiseptif uyarıların aminoasitlerin uyarıcı toksik etkilerinin mekanizmalarına bağlı olarak omuriliğin fonksiyonlarında kalıcı değişikliğe neden olabileceğini göstermiştir. Böylece akut bir doku hasarının da kronik ağrıya neden olabileceği anlaşılmaktadır⁴.

Kronik Ağrı: lumbal disk herniasyonuna bağlı bel ağrısı, zonadan sonra meydana gelen post-herpetik nevralji ve fibromiyalji gibi genellikle bir hastalık veya hasar tarafından tetiklenir. Ancak, ağrı dışındaki faktörlerle de sürdürülebilir. Vücudun bir parçasının kaybedilmesinden dolayı veya travmanın yaygınlığına ve takip eden izlere bağlı olarak oluşan hasar vücudun iyileşme direncini aşabilir. Sinir sistemi tekrar kendini normal hale getirmesi mümkün olmayacak şekilde zarar görebilir. Akut ağrıyı hafifletmeyi sağlayan tedaviler altta yatan patolojik tabloyu düzeltmezken kronik ağrı tedavisi genelde ağrı nedeni olan patolojiyi ortadan kaldırmaya yöneliktir⁴.

Kaynaklandığı Bölgeye Göre Ağrı

Somatik Ağrı: Parietal peritonun veya mezenter köklerin irritasyonuna ve inflamasyonuna bağlı, daha çok somatik sinirlerden kaynaklanan, ani başlayan, keskin, iyi lokalize edilebilen ağrıdır. Genellikle kırık, travma gibi durumlarda oluşan ağrı tipidir^{33,34}.

Visseral Ağrı: Sempatik sinirlerdeki küçük çaplı C sinir lifleri ile iletilen bu ağrı daha çok, kronik, yakıcı ve sızı şeklindedir. Visseral bir dokunun iskemisi, organ yüzeyinde bir harabiyet veya içi boş olan organlardaki düz kasların spazmı ile ortaya çıkar.

Sempatik Ağrı: Sempatik sistemin aktivasyonu ile ortaya çıkan bu ağrı daha çok yanma hissi ile karakterizedir^{35,36}.

Mekanizmalarına Göre Ağrı

Deaferentasyon ağrı: Periferik ve santral sinir sisteminde ağrı yollarındaki bozuklukla karakterizedir. Ağrılı bölgede renk değişikliği, sıcaklık azalması ve kıl kaybı gibi değişikliklere neden olabilir⁵.

Reaktif Ağrı: Vücutdaki motor ve sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu noziseptörlerin uyarılmasıyla ortaya çıkar. Bu tip ağrıya, toplumda “kulunç” olarak bilinen miyofasiyal ağrı ve refleks sempatik distrofiler örnek olarak verilebilir^{30,31,37}.

Diğer Ağrı Sınıflandırmaları

Ağrı tek başına bir olgu değil, semptomlar ve nörobiyolojik mekanizmalar topluluğudur. Altında yatan nedenlere göre pek çok ağrı çeşidi tarif edilmiştir.

Nosiseptif Ağrı: Birincil (primer) nosiseptif sinir liflerinin akut aktivasyonu ile meydana gelir. Vücudu doku hasarından korumak için önemli bir fizyolojik görevi yerine getirir. Uygun bir analjezik kullanılarak bu ağrı formu diğerlerinden ayrılabilir.

Psikosomatik Ağrı: Ağrıyı açıklayabilecek organik bir neden olmaksızın ortaya çıkan somatik şikayetler şeklinde gözlenen ağrı veya varolan organik lezyona göre şiddet ve süre bakımından orantısız derecede abartılmış bir ağrı tipidir⁵.

İnflamatuvar Ağrı: İnflamasyonun tüm formlarında ortaya çıkabilir. İnflamasyon aslında oluşan doku hasarının tamir işlevi sırasında ortaya çıkan bir olgudur ve bu olgunun ağrı komponenti hasarlı bölgenin fizyolojik fonksiyonlarını azaltarak (eklem hareketlerini kısıtlama gibi) iyileşme sürecinin hızlanmasına katkıda bulunur.

Nöropatik Ağrı: Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (IASP) Taksonomi Komitesi'ne göre nöropatik ağrı, sinir sisteminde oluşan bir lezyon veya disfonksiyon sonucu gelişir. Nöropatik ağrı sinir sistemi disfonksiyonu belirtisi olup kendi başına bir hastalık değildir³⁸. Bir başka deyişle nöropatik ağrı; periferik veya santral sinirlerdeki hasar sonucunda

ortaya çıkan çok şiddetli, genellikle analjeziklere yanıtız kompleks bir ağrı sendromudur. Genellikle bu tip ağrının tedavisi oldukça zordur³⁹.

Nöropatik ağrı sağlıklı primer afferentlerin uyarılması sonucu ortaya çıkan, organizmayı tehlikelere karşı korumak için bir uyarı oluşturan nosiseptif ağrıdan farklı olarak temelinde bir fizyopatolojik durum söz konusudur. Söz konusu bu fizyopatolojik mekanizmalar periferik ve santral olmak üzere ikiye ayrılırlar. Periferik mekanizmalar; nosiseptör sentizasyonu, lifler arası anormal etkileşim, ektojik deşarj gibi mekanizmalardan oluşur ve hepsi primer afferent sinirlerde değışikliklere bağıdır. Santral mekanizmalar; hipotalamik bozukluk, inisi inhibitör mekanizmalarda disfonksiyon, duyusal yolların irritasyonu olarak tanımlanabilir^{40,41}.

Nöropatik ağrıda, ağrı kendiliğinden ortaya çıkabilir. Düşük ağrı eşiğinden dolayı normal koşullarda ağrısız olan uyarı ağrı oluşturabilir (allodini). Uyarılara karşı oluşan cevap sürekli ve amplitüd bakımından abartılı olabilir (hiperaljezi). Bu tip ağrı duyusu vücuda dağılıbilir⁴².

Nörojenik ağrı: Nöropatik ağrı ve nörojenik ağrıyı karıştırılmamalıdır. Nörojenik ağrı, herhangi bir nöropati oluşma gereksinimi olmadan periferdeki sinirlerin hasarı ile ortaya çıkan ağrıdır^{23,43}.

Geçici ağrı (transient): Herhangi bir doku hasarı olmadan deride veya vücutun diğer dokularında nosiseptif transdüserlerin aktivasyonu ile ortaya çıkar. Bu ağrı çeşidinin fonksiyonu ağrılı uyarana cevabın başlangıç hızına ve sonlanma hızına bağıdır. Geçici ağrı insanları

çevrenin veya stresin dokular üzerindeki fiziksel hasarına karşı korumak için gelişmiştir⁴.

Ağrıyı anlamak için fizyolojik terimleri iki ayrı durum altında toplamak gerekir. Birincisi fizyolojik ağrı olarak tanımlanan, özel duyarlı ağrı reseptörlerinin uyarılması ile ortaya çıkan aşırı veya potansiyel hasarın uyarısıdır. İkinci tip ağrı hastalığa veya travmaya bağlı olarak oluşan cevabı değiştiren patolojik durumlarda gözlenir ve patolojik (fizyopatolojik) ağrı olarak tanımlanır. Genellikle bu ağrıyı sinir veya doku hasarı takip eder²¹. Fizyopatolojik ağrıda A-delta ve C sinir liflerinin yanında A-beta sinir lifleri de aktif hale geçebilir. Patolojik ağrının temelinde birçok farklı mekanizma yatmaktadır⁴⁴.

2.1.3. Ağrının Periferik Mekanizmaları

Periferik Duyarlılaşıma (Sensitizasyon)

Doku travması, enfeksiyon gibi durumlar karşısında nosiseptör terminalleri aşırı duyarlılaşır. Oluşan aşırı duyarlılık düşük eşik değerli uyaranlara karşı cevap oluşmasına neden olur ve ağrı oluşur⁴². Prostaglandin E₂ gibi nosiseptörleri duyarlı hale getiren ajanlar, nosiseptör terminallerinin aktivasyon eşik değerini düşürürler ve nosiseptör sonlarındaki membranlarda lokalize olan spesifik reseptörlere bağlanarak cevaplılığı artırır (Tablo 1). Bu reseptörler sitoplazma içindeki kinazlar ile bağlıdır⁴⁵.

Tablo 1. Periferik duyarlılıkta oluşan nöroaktif substantlar³³.

Madde	Kaynak	Sinir Sonundaki Etkileri
P maddesi	Sinir Terminalleri	Sensitizasyon
Bradikinin	Plazma Kininojen	Aktivasyon
Histamin	Trombositler, Mast Hücreleri	Aktivasyon
Protonlar (Düşük PH)	İskemi, Zedelenmiş Hücreler	Aktivasyon
Prostaglandinler	Arakidonik Asit, Zedelenmiş Hücreler	Sensitizasyon
Lökotrienler	Arakidonik Asit, Zedelenmiş Hücreler	Sensitizasyon
İnterlökinler	Mast Hücreleri	Aktivasyon ve Sensitizasyon
TNF - α	Mast Hücreleri	Aktivasyon ve Sensitizasyon

Ağrının Algılanması ve Ağrıya Cevap Süreci

Transdüksiyon

Uyarı nosiseptif reseptörler tarafından algılanır²¹. Bir enerjinin bir başka enerjiye dönüşmesidir. Algılanan ağrının duyuşal sinir uçlarında bulunan termal, mekanik, polimodal nosiseptörler ile sinir sistemi içerisinde iletimini sağlayabilmek için uyarının elektriksel aktiviteye dönüştürülür⁴⁶.

Transmisyon

Resöptörler tarafından algılanan mesaj (uyarı) daha üst merkezlere, santral sinir sistemine aktarılır. Periferden kortekse kadar uzanan bu yolda başlıca üç ana nöron görev almaktadır.

i) A-delta ile C tipi sinir liflerinden oluşan primer afferent duysal (birinci sıra) nöronlardır. Oluşan ağırlı uyarıyı nosiseptörlerden alıp omuriliğin dorsal boynuzuna ulaştırılır.

ii) Primer afferent nöronlar omuriliğin dorsal boynuzunda spinal nöronlar (ikinci sıra nöronlar, projeksiyon nöronlar) ile sinaps yaparlar. Spinal nöronlar beyin sapı ve talamusa uzanmaktadır ve spinotalamik yolak bu grup nöronlar içerisinde en önemli yoldur.

iii) Talamo-kortikal projeksiyon nöronları (üçüncü sıra nöronlar) ile ağırlı impulsun kortekse iletimi sağlanır. Bu yolağa supraspinal yolak da denir^{46,47,48,49}.

Modülasyon

Vücuttaki santral sinir sisteminde veya diğer periferel sinirlerde bulunan bazı aktiviteler tarafından uyarının değişime uğramasıdır²¹. Burada transmisyon iletinin azaltılması söz konusudur. Başlıca omurilik seviyesinde oluşan bir olaydır¹⁷.

Persepsiyon

Beynin duyguyu kortekste değerlendirerek ağırlı olarak algılamasıdır. Omurilikten geçen uyarılar çeşitli yollarla daha üst merkezlere aktarılır²¹.

2.1.4. Santral Ağırlı Mekanizmaları

Santral Duyarlılaşma (Sensitizasyon)

Santral duyarlılık kronik ağrının karakteristiğidir. Devamlı uzun süren uyarılar ile bazı fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Genlerin ifadesinde oluşan değişiklikler dorsal boynuzdan çıkan sekonder nöronlar ile oluşur. Omuriliğın dorsal boynuzundaki yapısal reorganizasyon ağrıdaki anormal yayılımı açıklayabilir⁵⁰. Periferel sensitizasyondaki gibi benzer yolla omuriliğın dorsal boynuzundaki santral nosiseptör ileti nöronları duyarlılaşabilir. Santral ve periferel duyarlılaşma ağrı oluşumundaki temel nedendir.

Santral duyarlılaşma dorsal boynuz nöronları ile santral nosiseptör sonları arasındaki sinaptik iletimi amplifiye eder^{51,52}. Aşırı uyarılabilir hale gelen duysal nöronlar ektopek deşarjlar oluşturarak fizyopatolojik ağrı oluşturabilirler.

Santral duyarlılaşmada NMDA reseptörlerinin aktivasyonu önemli rol oynamaktadır⁴². İntraselüler kinazların aktive olması, iyon kanallarının ve reseptörlerin fosforilasyonuna ve genlerin indüklenmesine, dolayısıyla nöronların kimyasal karakterinin ve fenotipinin değişmesine neden olur. Böylelikle nöronlarda hassasiyet oluřur⁵¹.

Periferden Santral Sisteme Ağrı İletimi

Deriden ağrı iletimini yapan 1. nöronlar iki çeşittir (Tablo 2).

a) “Birincil (primer)” ve “hızlı” ağrıdan sorumlu A-delta küçük çaplı miyelinli sinir lifleri

b) Daha fazla ağrı çeşidine yayılan, miyelinli olmayan “İkincil (sekonder)” ve “yavaş” ağrıya neden olan kalın C sinir lifleri (dorsal kök lifleri). Bu grup C-polimodal nosiseptörler olarak da bilinir⁵³.

Tablo 2. Sinir liflerinin çeşitleri ve fonksiyonları³³.

Grup	Çap (μ)	Miyelin	Fonksiyon
A	20 -12	+	Motor (Efferent), Duyusal
A	12 - 6	+	Motor (Proprioseptif, dokunma)
A	8 - 2	+	Sensorial (Ağrı, ısı, dokunma)
A	5 - 2	+	Otonom (Efferent Pregangliyoner)
C	1.2	-	Otonom (Postgangliyoner sempatik)

C sinir lifleri, impulsları 0.5-2.0 m/sn hızında iletirler. A-delta lifleri ise sahip oldukları miyelin kılıf sayesinde 6.0-120 m/sn hızda ileti hızına sahiplerdir. A-delta lifleri alfa (α), beta (β), gama (γ) ve delta (δ) olmak üzere alt grublara ayrılırlar²¹. C sinir lifleri şiddetli mekanik uyarı, termal uyarılar ve kimyasal uyarılara karşı da duyarlıdırlar⁵⁴. Derideki ve iç

organlardaki her iki çeşit birincil lifler omuriliğin ve dorsal boynuzun yüzeysel alanlarında sonlanırlar. A-delta ve C sinir lifler ağrıyı periferden omuriliğin arka boynuzundaki ikinci nörona kadar taşırlar^{54,55}. A-delta ve C sinir lifleri omuriliğe girince ikiye ayrılırlar. Nosiseptif sinir uçlarının santral terminalleri dorsal boynuz gri cevherinin marjinal zonu (Lamina I) ile substantia jelatinosada (Lamina II) yer alan nöronlarla sinaps yaparlar. Bazı A-delta sinir liflerinin uzantıları ise daha derinde lamina V hücrelerine ulaşır⁵⁶. Sinir lifleri oluşan impulsları Substantia gelatinosa iletim hücrelerinden, talamusa taşırlar. Talamus ağrı girişinin anabolik faaliyetinden sorumlu bir alana sahiptir. 3. nöronlar ağrı impulslarını talamusdan ağrının anlaşılır proseslerinin gözlemlendiği serebral kortekse iletir. Orta beyin ve beyin sapındaki inisiyasyon yolu, dorsal boynuz iletiminde güçlü bir inhibitör etki gösterir. Dorsal boynuzdaki iletim çeşitli düzenleyici etkilere bağlıdır⁵³. Dorsal boynuzda bulunan nöronlar başlıca 3 grupta incelenebilirler;

Projeksiyon Nöronlar: Bu nöronlar uyarıldıklarında impulsları anteroletarel afferent bölgeye aktarırlar ve ağrı daha üst merkezlerde algılanır. Projeksiyon nöronları başlıca iki grupta ele almak mümkündür. Özellikle Lamina I'de bulunan, yalnız A-delta ve C-lifleri ile uyarılan projeksiyon nöronları spesifik olarak nosiseptif olanlardır. İkinci grup projeksiyon nöronları Lamina I ve V'de bulunur ve hem nosiseptörlerden hem de düşük etkili mekanoreseptörler tarafından uyarılırlar (WDR, Wide Dynamic Range)^{35,57,58}.

Eksitator nöronlar: Ağırlıklı olarak A-delta ve C liflerinden sinyal olarak aktive olan bu nöronlar, duyu bilgileri ve ağrı sinyalleri projeksiyon nöronlarına geçirirler ve bu nöronların aktive olmalarını sağlarlar^{54,59}.

Inhibitör nöronlar: Üst merkezlere ağırlı bilgi akışını düzenlemede rol alan bu nöronlar, genel olarak miyenli A-beta grubu geniş çaplı afferent lifler aracılığı ile uyarılırlar ve bu liflerle uyarılma sonucu projeksiyon nöronlarında inhibisyon gerçekleşir. Bu nöronlar ile nosiseptif sinyal iletimi gerçekleşmez.

Ağrının Santral Nöromediyatörleri

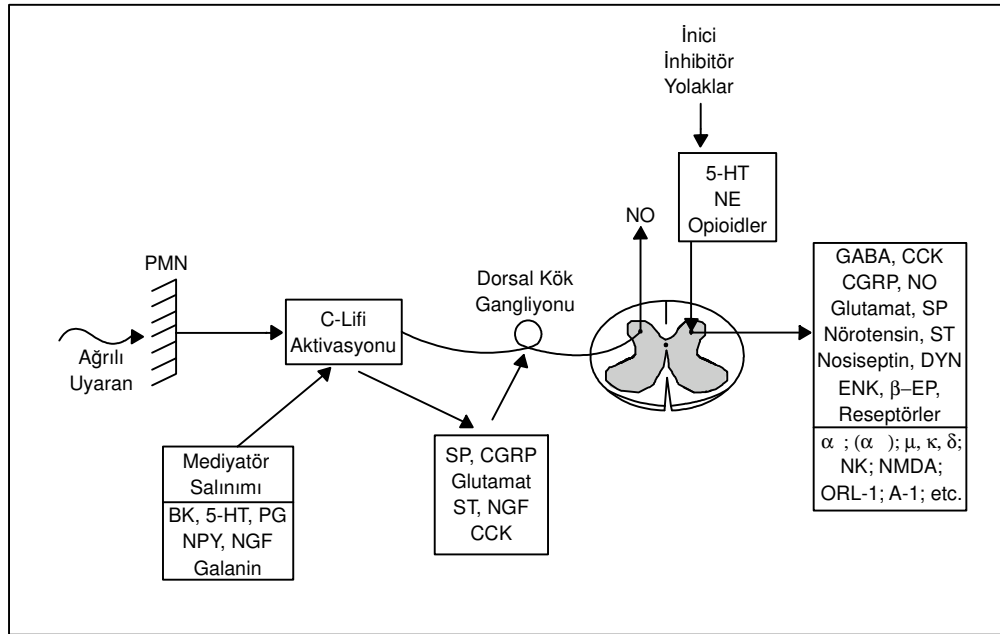
Primer afferent sinir terminallerinde, ara nöronlarda ve inen kontrol sistemlerde bulunan birçok nöromediyatörler, ağrının nöral mekanizmalarında önemli rol oynamaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir⁶⁰ (Şekil 1).

Glutamat: A-delta sinir liflerinin terminal uçlarından ve motor nöronlara sinaps yapan afferentlerden salgılanır^{61,62}. Dorsal boynuzun prejeksiyon hücrelerinde depolarizasyon yapabilirler. Bu etkisini Na/K iyon kanallarını açması ve NMDA'yı kullanarak gerçekleştirir. Güncel çalışmalar ekzojen olarak uygulanan glutamatın periferdeki glutamat reseptörlerini uyararak primer afferent C-liflerini depolarize ettiğini ve ağrı davranışları oluşturduğu kanısındadır^{63,64}.

Nöropeptidler: Genel olarak C sinir liflerinin uyarılması sonucunda oluşurlar ve projeksiyon hücrelerinde çok yavaş ve çok uzun süreli depolarizasyona yol açarlar. P maddesi, nörokinin-A, kolesistokinin ve kalsitonin geni ile ilgili peptid (CGRP) bu nöropeptidlere örnek verilebilir^{61,65}. P maddesi 11 aminoasit içeren eksitatör bir nöro-peptittir. Hipotalamus ve omurilikte primer afferent nöronlarda yoğun olarak

bulunur. Ağrılı uyarının birincil dorsal nörondan ikincil nörona aktarımında önemli rol alır⁶⁰.

Gama Amino Bütirik Asit (GABA): İnhibitör bir nörotransmitter olan GABA, daha çok omurilik ve retinada bulunurlar. Omurilikte duyuşal sinir uçlarında presinaptik inhibisyon yapar⁶⁰.



Şekil 1. Nosiseptif yolaktaki modülatör transmitterler⁵³. (PMN, polimodal nosiseptörler; BK, bradikinin; 5-HT, serotonin; PG, prostaglandin; NPY, nöropeptid Y; NGF, sinir büyüme faktörü; SP; P maddesi; CGRP, kalsitonin geni ile ilgili peptid; ST, somatostatin; CCK, kolesistokin; NE, norepinefrin; GABA, gama aminobütirik asit; DYN, dinorfin; ENK, enkefalin; β-EP, β-endorfin; NK, nörokinin; NMDA, N-metil-D-aspartat; ORL, orfanin benzeri).

2.1.5. Ağrı Yolakları

Çıkan Ağrı Yolakları

Ağrının yukarı çıkan yolaktaki mekanizmasının temel esası, vücut dokularında nosiseptör olarak adlandırılan özelleşmiş reseptörleri harekete geçirmektir. Bu reseptörler dokulardaki olası veya varolan hasara karşı dokuları uyarmak için cevap oluşturmaya özelleştirilmiştir. Nosiseptörler, dorsal boynuz nöronları ile sinaps yapan primer afferent nöronların aksonlarına bağlıdır. Omuriliğin dorsal boynuzu vücudun büyük bir kısmından somato-sensoryal bilgiyi alır ve medulla oblangatanın dorsal boynuzu trigeminal sinirler aracılığı ile orofasiyal alandan input alır⁷ (Şekil 2).

Çıkıcı ağrı yolakları, spinotalamik ve spinohipotalamik alanlar gibi nosiseptif iletiyi omurilikteki dorsal boynuzdan santral sinir sistemindeki (CNS) yüksek merkezlere ileten yolaklardır⁵⁴. Bu sistemdeki yolları iki gruba ayırmak mümkündür.

Spino-talamik yol:

Ağrının; Yer, şiddet ve zaman gibi diskriminatif (ayırma) özellikleri ile algılanmasını sağlar. Arka kökten A-delta ve C lifleri aracılığı ile giren ağrılı uyaranlar spinal gangliyonda substantia jelatinosada ikinci duyusal nöron ile sinaps yapar. Kontralateral çaprazlaşma oluşturur ve talamusun spesifik çekirdeklerine çıkar⁶⁶. Bu lifler iki temel talamik çekirdeğe sahiptir. Bunlardan birincisi lateral çekirdek olup, lamina I ve V

dorsal boynuzdan başlar, periferdeki daha küçük, alanlardan uyarı alır. Gelen bu sinyaller ağrının ayırt edici özelliği ile ilgilidir. İkincisi ise mediyal çekirdekler olup, lamina I, IV ve VI'dan başlarlar ve geniş reseptif alanlardan uyarı alırlar. Bu liflerin taşıdığı impulslar sensoryal uyarılmayı sağlamak içindir⁵⁴.

Medulla spinalis vücudun ağrısı kendi kendine kontrol etmesine olanak sağlar⁶⁷. Santral sinir sistemindeki yüksek merkezler, ağrının tanımlanmasını ayırt edilmesini, ağrının hafıza bileşenlerini ve ağrılı iletiye karşı acil cevabın motor kontrolünü içerir¹⁸.

Patrick Wall ve Ronald Melzack 1965 yılında, ağrı algılanmasının modülasyonunu sağladığını ileri sürerek kapı kontrol (Gate Control) Teorisini açıkladılar. Omuriliğin dorsal boynuzundaki nöral mekanizmalar, periferel liflerden omuriliğe impuls akımını azaltan veya artıran bir kapı gibi rol oynarlar⁶⁷. Öncelikle eksitatör nöronlar, periferden gelen afferent uyarılar ile aktive edilir. Bu aktivasyona bağlı olarak inhibitör ara nöronlar inhibe olur ve projeksiyon nöronlar aktive olurlar. Bu aktivasyon sonucu ağrılı uyarılar santral sinir sistemine geçer. A-beta grubu geniş çaplı liflerin uyarılması sonucu inhibitör nöronlar aktive olurlar ve projeksiyon nöronları inhibe ederler. Böylelikle ağrılı sinyal geçişi durdurulur. Buradaki nöronlar ağrılı uyarının omurilik seviyesinde durdurulması için çaba gösterir. Bu lifler arasındaki iletişim omurilikteki substantia jelineosada gerçekleşmektedir³⁵. Medulla spinalis yapısal olarak farklı işlevleri bulunan laminalara (yapraklara) ayrılır. Bunlardan bazılarının görevleri aşağıda verilmiştir.

Lamina I- Marjinal bölge olarak da bilinir. A-delta mekanoresptörler ve bazı polimodal C lifleri gibi uyaranlara yanıt verirler. Öncelikli olarak ağırlı uyaranlara yanıt verirler.

Lamina II- (substantia jelatinosa) lokal bağlantıları yapan nöronları içerir. Lamina I ve IV in hücrelerini modüle eder.

Lamina IV- A-delta ve A-beta gibi kalın ve ince afferent liflerden uyarı alırlar. Bu bölgede wide dynamic range hücreleri bulunmaktadır. Lamina V deki alıcı alan Lamina I ve II ye göre daha geniştir^{21,68}.

Primer afferent (birincil) sinirler dorsal kök ganglionunda hücre gövdelerine sahiplerdir ve dorsal boynuz aracılığı ile omuriliğe girerler. Nosisseptif afferent sinirler dorsal kök gangliyonu dışında herhangi bir sinaps yapmazlar. İlk önce lifler aktive olur ve bu mesaj kesintisiz şekilde omuriliğe geçmektedir. Omuriliğe girişten sonra bu lifler, iletiyi bir doku kanalına (Gri cevhere girmeden önceki ve Lamia I, II veya IV de sonlandırılan bir veya iki bölge) yükseltir ya da alçaltır. Lifler burada anterior commisureda omuriliği çaprazlayıp beyne yükselen ikincil nöronlarla sinaps yaparlar. Böylece vücudun sağ tarafından gelen bilgiler omuriliğin sol tarafından beyne ulaşır²¹.

Periferal sinirlerdeki duyuusal aksonlar, metabolik olarak dorsal kök gangliada (DRG) bulunan sinir hücre gövdeleri tarafından desteklenir. Geniş çaplı DRG hücre gövdeleri, miyelinli şekilde hızlıca A-delta lifleri ile etkileşirken küçük ve orta çaplı DRG hücre gövdeleri birçok

nosiseptif A-delta ve C liflerine destek olur. Bu A-delta ve C lifleri, çoğunlukla geniş A-delta liflerinin sonlandığı derin lamina III-IV gibi omuriliğin yüzeysel dorsal boynuzunda sonlanır. Sıcaklığa karşı C-liflerinin cevapları çeşitli uyaranlar tarafından artırılabilir (C-lifi reseptörlerini selektif aktive ettiği düşünülen kapsaisin ve hardal yağı gibi)¹⁵.

Dorsal kolon yolağı ve spinotalamik yolak (STY), talamusa giden iki ana somatosensoryal afferentlerdir. STY, spinal dorsal boynuzdaki nöronal çekirdekten ve talamusta sonlanmadan önce omuriliğin anterolateral çemberine yükselen ve diğer supraspinal yapılardan oluşur. STY' nin nosiseptif ve nosiseptif olmayan uyarılardan sorumlu nöronları birçok hayvan türünde bulunmuştur. Somatik uyarıdan sorumlu nöronlar yoğun ağrılı alana geçerler. Bu hücreler dorsal boynuzun heriki yüzeysel (lamina-I) ve derin lamasına (Lamina IV-V) yükselir⁶⁹.

Spino-retiküler yol:

Çapraz yapmış dorsal boynuz aksonlarından oluşan bu yolak, anterolateral çıkıcı sistem dahilinde ilerler³⁹. Mezensefalik ve bulbo-pontin yol olarak başlıca 2 gruba ayrılabilir. Spesifik olmayan talamik çekirdeklerinden korteksin her alanına difüze olur, bulbus ve ponstaki retiküler çekirdek gruplarına uzanırlar^{47,39}. Ağrıya karşı emosyonel yanıt oluşumunda görevli olan bu yolak acı yolağı olarak da adlandırılır^{26,66}.

i) Bulbo-pontin yol: Bulbus ve ponstaki retiküler çekirdek gruplarına uzanır.

ii) Spinomezensefalik yol: Dorsal boynuzun lamina I ve V'teki nosiseptif projeksiyon nöronları anterolateral sistem içinde yer alır ve mezensefalik periaquaduktal gri cevhere kadar yükselir. Bu beyin kökündeki para-brakial nükleusa giden yolakla aynı veya ilgili olabilir. Bu yolaktaki nöronların periaquaduktal gri cevherde bağlantı yapması nosisepsiyonda çok önemlidir. Çünkü burada analjezik etkiden sorumlu enkefalinerjik nöronlar vardır. Periaquaduktal gri cevher antinosisseptif mekanizmalar tarafından tetiklenir^{20,54}. Korteksi genel bir uyanıklık içerisinde tutmayı ve zararlı olabilecek uyarılara karşı bir uyarı hali oluşturmayı sağlamaktadır⁵⁶.

Çıkıcı nosiseptif yolaklar omurilikte oluşmaktadır ve beyin sapının özel alanlarında ve ayrıca rostrumda çıkıntı oluşturmaktadır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda omuriliğin dorsal boynuzundan dorsokaudal (dorsum retikularisin alt çekirdeği, subnucleus reticularis dorsalis) medullaya oradan talamusun ventromediyen çekirdeğine ve son olarak dorsalateral boynuza kadar bir yolağın uzandığı gösterilmiştir. Diğer bir çıkıcı yolağın da omurilikten parabrakial çekirdeğe sonra da hipotalamusa ve amigdalaya doğru olduğu düşünülmektedir. Bir başka yolak ise nosiseptif etkiyi, parabrakial çekirdekten intralaminar talamusa ve oradan frontal kortekslere iletir. Bu yolaklar kavramsal prosesler ve ağrı arasındaki iletişime ve ağrının duygusal bakış açılarına katkıda bulunur¹².

İnen Ağrı Yolakları

İnen ağrı yolakları, santral sinir sistemindeki yüksek merkezlerin nosiseptif bilgiyi birçok düzeyde modifiye etmesine imkân verir¹⁸ (Şekil 2). Periaquaduktal gri alan (PAG) spinal nosiseptif aktiviteyi düzenleyen inisi mekanizmalarda önemli bir rol oynar¹². İnen yolakları 3 gruba ayırmak mümkündür.

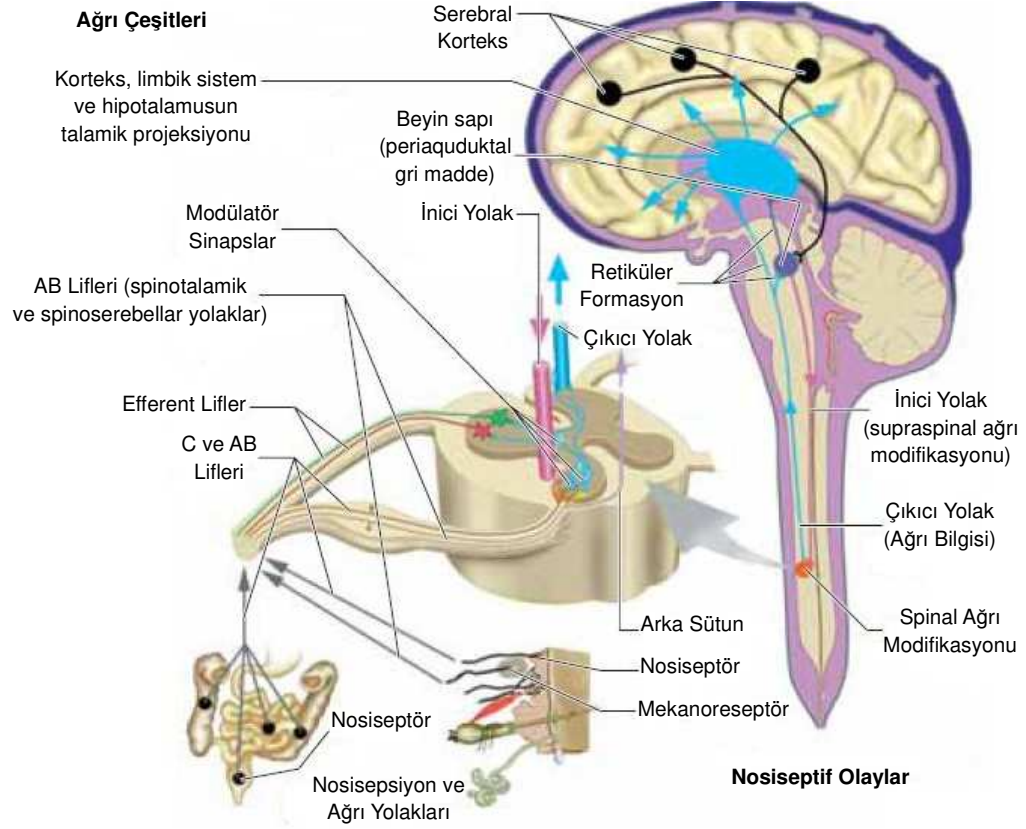
1- Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde yer alan enkefalinerjik nöronlardır. Bu nöronların serebral korteks ve hipotalamus ile bağlantı içinde olduğu düşünülmektedir. Mezonsefalon'da, Silivius kanalının çevresine yerleşmiş periaquaduktal gri maddedeki nöronlardan başlayıp bulbusdaki retiküler formasyona giderek nükleus rafe magnus ve nükleus retikülaris gigantosellularisteki serotoninerjik nöronlarla sinaps yapan ve opioid bakımından zengin olduğu düşünülen yolaktır.

2- Pons ve bulbusta retiküler formasyonu medyan kısmında bulunan nükleus retikülaris gigantosellularis ve nükleus retikülaris paragigantosellularis'den başlayıp medulla spinalis arka boynuzunda sonlanan ve temel nörotransmitterleri noradrenalin olan bir diğer yolaktır.

3- Antinosiseptif kontrol yolağıdır ve locus seruleus bağlantılı olan noradrenerjik bir yolaktır^{66,70,71,72}.

Oluşan bu antinosiseptif etkiler, lamina I ve II'de bulunan nosiseptif projeksiyon nöronlardaki membran üzerinde K⁺ iyonu

iletkenliğini arttırarak ve hiperpolarizasyon olusturarak ortaya çıkar⁷⁰. GABA, serotonin noradrenalin ve glisin gibi nörotransmitterler inen nosiseptif yollarda nosiseptif uyarının inhibisyonunda ve nöropatik ağrı oluşumunda görev alırlar⁶⁶. Bunlar dışında somatostatin ve bombesin gibi nöropeptidler de inhibitör etki yapmaktadırlar⁵⁶.



Şekil 2. Ağrı yolları ve nosisepsiyon⁷³.

2.1.6. Ağrı Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Akut ağrı tedavisinde gerekli analjezik çabuk etki başlama süresine ve uzun analjezik etkiye sahip olmalıdır. İdeal bir analjezik maddenin karakteristiğini şöyle sınıflayabiliriz;

1. Çabuk etki başlangıcı
2. Uzatılmış etki potansiyeli
3. Ağrı kesilmesi sürekli olmalıdır.
4. Birçok ağrı çeşidine etkili olmalı
5. Farklı hasta popülasyonlarında etkili olmalı
6. İyi tolere edilebilmeli⁷⁴.

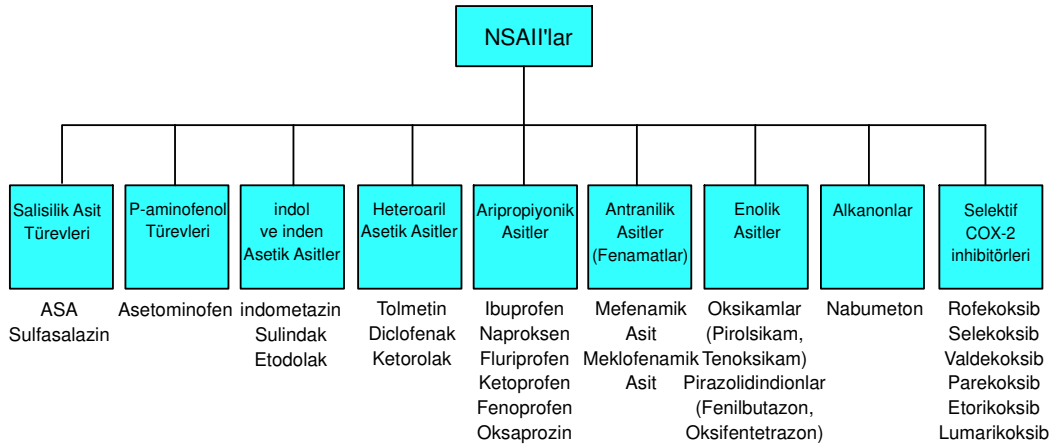
NSAİİ'ler

Nonsteroidal antiinflatuvar ilaçlar (NSAİİ) analjezik ve anti inflamatuvar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tahmini olarak dünya üzerinde 100 milyonu aşkın insan düzenli olarak NSAİİ kullanmaktadır. 1970'lerden bu yana bu grup ilaçların terapötik ve advers etkileri PG sentezini inhibe etmelerinden kaynaklandığı kabul edilmiştir⁷⁵.

Analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkilerinde, arakidonik asiti prostasiklin, prostaglandin (PG)'ler ve tromboksana dönüştüren siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe etmeleri temel rol oynar.

Homeostazda önemli fonksiyonu olan COX-1'i ve inflamasyon sırasında indüklenen COX-2 enzimini inhibe ederler. Bu grup

ilaçlar antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkilerinden ve opioid benzeri sedasyon, mental kayıp, bulantı, konstipasyon ve diğer yan etkileri yapmadığından dolayı oldukça tercih edilir boyuttadır⁷⁶. Ancak midedeki COX-1 enzimini de bloke ettiklerinden midede protektif etkiye sahip bazı prostaglandinlerin sentezini bloke etmektedir ve beraberinde dispeptik şikayetler, ülser, mide kanaması gibi yan etkiler gözlenmektedir⁷⁷. COX-2 enziminin inhibisyonuna bağlı olarak kardiyovasküler yan etkiler ortaya çıkabilir. Hayvanlar üzerindeki ve klinik çalışmalardaki gözlemler, COX-2 inhibisyonunun major kardiyovasküler sonuçlarının, endotelial yüzeylerde trombozise neden olan protrombotik/antitrombotik dengenin değişmesine bağlı olarak ortaya çıktığını göstermektedir⁷⁸. Antiinflamatuvar etkileri, COX-2 enziminin inhibisyonuna ayrıca reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu azaltmalarına ve inflame hücrelerde lizozom zarını stabilize etmelerine bağlıdır⁷⁷. NSAİİ ilaçlar kimyasal yapılarına göre aşağıdaki şemada sınıflandırılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. NSAİİ kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması⁷⁸.

Opioidler ve Opioid reseptörleri

Opioidler, özellikle morfin ağrı tedavisinde en etkili olanlar arasındadır. Opioidler ağrının santral sinir sistemi tarafından algılanmasını ve ağrıya verilen yanıtı önleyerek etki gösterirler. Bu etkilerini periferik spinal ve supraspinal alanda opioid reseptörlerini (mü (μ), sigma (σ), ve kapa (κ), delta (δ) ve epsilon (ϵ) opioid reseptörleri) değişime uğratarak ortaya koyarlar⁷⁹. Hem opioid agonistleri, hem de antagonistleri opioid reseptörlerine bağlanmalarına rağmen sadece agonistler reseptörü aktive ederler⁸⁰. Opioid reseptörleri de pre- ve postsinaptik olarak arka boynuzda bulunurlar. Presinaptik opioid reseptörlerinin aktivasyonu ağrı üzerinde inhibitör etki oluşturur²⁷. Opioid reseptörlerinin mü, delta, kappa, sigma ve epsilon adında bilinen 5 formu vardır.

Mü reseptörü: Supraspinal analjezi, solunum depresyonu, öfori ve fiziksel bağımlılıkla ilgilidir. Bu reseptörü etkileyen opioid ajan morfindir.

Kappa reseptörü: Spinal analjezi, miyosis ve sedasyonla ilgilidir.

Sigma reseptörü: Eksitasyon, disfori, halüsinasyonlar, respiratuar ve vazomotor stimülasyonla ilgilidir.

Delta reseptörü: Bu reseptör hakkındaki bilgiler kesinlik kazanmış olmamasına rağmen davranış hali ile ilgilidir. Bu reseptör enkefalin tarafından etkilenir.

Epsilon reseptörü: Beta - Endorfinin bazı etkileri diğer endorfinlerden farklıdır ve diğerlerinden farklı bir reseptörü etkiler.

G proteini kenetli opioid reseptörlerinin aktif hale gelmesi ile cAMP sentezinde azalma oluşur ve K^+ kanalları açılır, Ca^{++} kanalları kapanır. Böylelikle ağrı için inhibitör etki oluşur⁸¹. Duyusal nöronlar opioid reseptörlerini eksprese eder ve santral kutuplara ve periferik kutuplara her ikisine birden taşırlar. Santral kutuplarda opioidler, primer afferent nösiseptörlerden salınan transmitterleri azaltırlar ve böylelikle sinaptik iletimi bloke ederler. İnflamasyon ve yaralanma ile indüklenen duyusal nöronları hiperpolarize eden ve sinir duyarlılaşmasına veya hiperesksitabiliteye neden olan doğrudan periferik opioid reseptör aktivasyonunu inhibe eder. Opioid reseptörlerinin aktivasyonu genellikle bilinen bazı değişikliklere, sedasyon huzursukluk hali, solunum depresyonu ve konstipasyon gibi santral sinir sistemi (CNS) yan etkilerine neden olur. CNS yan etkilerinden kaçınarak opioidlerin periferik antinösiseptif etkilerinden yararlanmak için birçok kuvvetli girişimler vardır⁷⁹.

Sekonder analjezikler

Sekonder analjezikler esas kullanımları ağrı dışında olan ancak günümüzde bazı ağrı sendromlarında faydalı olduğu bilinen adjuvan analjezikler veya ko-analjezikler olarak da adlandırılan ilaçlardır. Bu ilaçların bazıları doğrudan etki gösterirken bazıları da dolaylı olarak analjeziklerin etkisini artırarak etkili olmaktadır. Bu gruba antidepresanlar, nöroleptikler, kortikosteroidler, antikonvülsanlar, kalsitonin gibi ilaç grupları örnek olarak verilebilir³¹.

2.2. DENEY HAYVANLARINDA AĞRI OLUŞTURMA YÖNTEMLERİ

Deneysel ağrı modellerinin amacı ağrının özelliğini, temelini açıklamak ya da herhangi bir maddenin ağrı üzerindeki etkisinin araştırılması şeklindedir. Hayvanlarda ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesi zordur⁸². Ağrılı uyarana karşı ancak deney hayvanının motor, vejetatif veya davranışsal reaksiyonları doğrultusunda anlam çıkarılabilir. Bu reaksiyonlar arasında, kaçma, saldırma, anormal yeme gibi davranışsal, taşikardi, defekasyon, kan basıncında artış gibi vejetatif, kuyruk çekme, tırmanma, sakınma gibi motor reaksiyonlar vardır^{14,83}.

Ağrı modellerinde kısa süreli uyaran kullanılarak oluşturulan akut ağrı modelleri “fazik ağrı modelleri” olarak adlandırılır. Bu ağrı modelleri termal, mekanik ve elektriksel maruziyetle oluşturulur. Tail flick, hot plate, kuyruk veya pençenin elektrikle uyarılması gibi testleri içermektedir. Yine ağrı modellerinde uzun süreli uyaran kullanılarak oluşturulan kronik ağrı modelleri de “tonik ağrı modelleri” olarak adlandırılır. Genelde bir kimyasala maruziyet ile oluşturulur. Formalin, hipertonic salin, EDTA, kapsaisin, asetik asit gibi kimyasalların enjeksiyonu ile elde edilir¹⁴.

Nosisepsiyon modelleri çeşitli zararlı (ağrılı) veya zararsız uyarı ilemini içerir; örneğin, kemirgenlerin pençe veya kuyruğunu ağrıya bağlı olarak kantitatif refleks çekme şeklindeki tepkileri. Bu metodlar, analjeziklerin omurgalılarıdaki nosisepsiyon mekanizmalarının geliştirilmesi ve insanlarda ve hayvanlarda ağrı için kullanılması açısından esansiyeldir. Daha güçlü ve selektif tedaviler benzer başka çalışmalarla geliştirilebilir¹⁵.

Memelilerde nosiseptörler sıcak, soğuk, mekanik basınç, ve kimyasalların oluşturduğu uyarı ile aktive olurlar. Birçok hayvan ağrı modeli, basitçe bir nesneye maruziyet ile uyarı oluşumunu ve bu maruziyete karşı oluşan davranış hareketlerinin sayılmasını içerir⁸⁴. Temel olarak bu testler iritan, algojenik bir kimyasal ajan kullanımını içerir. Temel davranış modellerindeki uyarılar intradermal ve intraperitoneal enjeksiyon ile oluşturulur. İntraarterial ve intradental bradikinin uygulanması daha az kullanılır. Ayrıca intrakapsüler (çene) algojenik madde uygulanması anestezi altındaki hayvanlarda birçok davranışsal olmayan ağrının farmakolojik çalışmalarında kullanılmıştır. Ayrıca intrakapsüler ürat kristallerinin, Freund's adjuvanının veya karragenin uygulanması davranış testlerinde kullanılır. Fakat bu maddeler kronik inflamasyon ağrısı modelleridir¹⁴.

2.2.1. Termal Ağrı Yöntemleri

Tail Flick ve Tail İmmersiyon Testi

Tail flick testi D'Amour ve Smith tarafından 1941 yılında tanımlanmış olup günümüzde halen kullanılmaktadır⁸⁵. Test hem fareler hem de sıçanlar için geçerlidir. Bu testte deney hayvanın kuyruğunun belirli bir noktasına şiddeti ayarlanabilen bir lamba aracılığı ile radyan ısı uygulanır. Hayvan kuyruğundaki acıyı hissettiği anda kuyruğunu çeker ve fotosensör yardımı ile devre kapanır. Uygulamanın başlangıcından hayvanın spinal refleksle kuyruğunu çektiği zamana kadar geçen süre belirlenir. Bu süreç hayvanın ağrı eşiğini belirler. Uygulanan analjezikler bu süreci uzatır. Yöntemin en önemli özelliği basit olması ve reaksiyon süresinin çok fazla bireysel değişkenlik göstermemesidir. Test direkt ağrı

ölçümünden çok spinal nosiseptif refleksin değerlendirilmesinde kullanılır⁸⁶ (Şekil 4).

Tail immersiyon testi ise, ilk kez Ben-Bassat tarafından 1959'da tanımlanmıştır⁸⁷. Bu testin genel mantığı bir termostat yardımı ile sabit ısıda tutulan suya deney hayvanının kuyruğunun batırılması ve ısıya karşı verdiği tepki ile bağlantılıdır. Soğuk uygulayarak da yapılabilir. Bu testde de tail flick testinde olduğu gibi reaksiyonun süresi deney hayvanının ağrı eşiğini belirlemektedir.

Tail immersiyon ve hot plate testi (düşük ısılarda çalışma imkanından dolayı) zayıf etkili analjeziklerin etkilerinin araştırılmasında daha etkilidir ve daha çok spinal refleksleri değerlendirmek için kullanılır⁸³.



Şekil 4. Tail flick test düzeneği⁸⁸.

Hot plate testi:

1944'de ilk kez Woolfe ve MacDonald tarafından ortaya koyulmuştur. Günümüzde en çok 1953'de Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan modifiye formu kullanılmaktadır⁸⁹. Fare ve sıçanlarda en çok kullanılan testlerden birisi olan hot plate testi, 50-56 derece sıcaklıkta bir alimunyum zemin üzerine hayvanın ayağının değdirilmesi ve arka ayağını çekmesine kadar geçen süreyi hesaplayarak uygulanır. Pleksiglas camla çevrili sıcak zemin üzerine doğrudan hayvan konulur. Hayvanın gösterdiği davranışlar ile reaksiyon sonlanır⁹⁰. Hayvanın ısı karşısındaki davranışları sadece arka ayağın çekilmesi olabileceği gibi ayak çekme ve yalama, sallama veya sıçrama şeklinde olabilir. Hayvan sıcak zemin üzerinde doku hasarı olabileceğinden dolayı 30 sn'den fazla tutulmamalıdır⁹¹ (Şekil 5).



Şekil 5. Hot plate test düzeneği⁹².

Soğuk uyaran testi

Bu yöntem daha çok kronik ağrı ve nöropatik ağrı çalışmalarında kullanılır. Deney hayvanının kuyruğunun soğuk suya batırılmasından sonra kuyruğu refleks olarak çekmesi gözlenir.

2.2.2. Mekanik Ağrı Yöntemleri

Ayak Çekme Testi (paw withdrawal)

1957 yılında Randall ve Selitto tarafından geliştirilmiştir. Bir pedal yardımı ile hayvanın pençesine giderek artan basınç⁹³. Hayvanın uygulanan basınca karşı ayak çekme gibi tepkiler göstermesi reaksiyonun sonunu oluşturur. Daha çok inflamasyona bağlı olarak gelişen hiperaljezi durumlarında kullanılmaktadır. Yanıtlar arasında yüksek bireysel farklılıklar oluşması yöntemin dezavantajıdır.

Kuyruk Sıkıştırma Testi (tail clip)

1929'da Haffner tarafından ortaya konulmuştur⁹⁰. Temel mantığı ve oluşan basınca karşı hayvan reaksiyonları ayak çekme testindeki gibidir. Kuyruk üzerinde basınç oluşturmak için farklı klipsler kullanılır.

2.2.3. Kimyasal Ağrı Yöntemleri

Kimyasal ajanların uygulanması ile oluşan bu yöntemler uzun sürelidir ve uygulandıktan sonra geri dönüşümsüzdür.

Writhing testi (kıvrınma)

Genellikle deney hayvanına intraperitoneal olarak asetik asit ya da fenilkinon (%1'in altında) uygulanır. Abdominal kasılmalar temel davranışı gösterir ve enjeksiyondan birkaç dakika sonra başlar, 5-10 dakika içerisinde maksimum değere ulaşır. Abdominal kasılmaları takiben arka ayaklarda ekstansiyon karakterizedir.

Kimyasal ajanların intraperitoneal olarak uygulanması birçok seröz membranı uyarır ve abdominal kasların kasılması, vücudun bir bütün olarak hareketi, dorsabdominal kasların titreşimi ve motor aktivitenin azalması gibi, çok karakteristik bir davranış oluşturur. Bu davranışlar refleks olarak düşünülür (Hammond, 1989) ve viseral ağrı bu grupta değerlendirilir¹⁴.

Formalin testi:

%37'lik formaldehit solüsyonu olan formalinin %0.002-15 oranında deney (fare, sıçan, kedi) hayvanın pençesine intraplantar enjeksiyonu ile oluşturulur. Enjeksiyonun ardından hayvanın pençesini yalama, ısırma, sallama süresi kaydedilir ve değerlendirilir. Oluşan davranışların şiddeti uygulanan formalin konsantrasyonu ile doğru

orantılıdır⁹⁴. 1977'de Dubuisson ve Dennis tarafından tanımlanmıştır ve daha sonra geliştirip farelerde uygulanmıştır⁹⁵. Karregenin, serotonin, kaolin gibi inflamasyon oluşturan maddelerde aynı şekilde kullanılabilir.

Formalin yanıtı iki aşamalıdır (fazlıdır). Enjeksiyondan hemen sonraki 5-10 dakikalık süreç akut faz, birinci faz olarak ele alınır ve süre sonuna doğru cevap azalır. Birinci fazı takiben cevapsız bir dönem gelir ve enjeksiyondan 15 dakika sonra tonik faz adı verilen ikinci faz süreci başlar. Birinci fazın periferdeki nosiseptörlerin doğrudan stimülasyonuna, ikinci fazın ise inflamatuvar olaylar ve buna bağlı olarak oluşan santral sensitizasyon sonucu oluştuğu düşünülmektedir^{14,63,96}.

2.3. İNFLAMASYON

İnflamasyon (yangı) iç ve dış enfeksiyon etkenine karşı oluşan bir vasküler, humoral ve hücrel reaksiyonları içeren savunma mekanizmasıdır. Fizyolojik olarak inflamasyonun temel işlevi, oluşan enfeksiyonu iyileştirmek veya doku hasarını tamir ederek homeostazisi korumaktır⁹⁷. Bu savunma mekanizmasının zararlı yanlarında bulunmaktadır. Aşırı duyarlılık reaksiyonlarına bağlı olarak, artmış reaktif inflamatuvar yanıt, organ fonksiyonlarında bozulma veya yetmezliğe, ani ölüme sebep verebilir. Buna en iyi örnek, perikardit sonrası, kalpte oluşan yoğun fibroz doku kalbin fonksiyonlarının bozulmasına neden olur⁹⁸. İnflamasyon olmayışı hasarlı dokuya mikroorganizmaların istilasına neden olur, enfeksiyon daha ağır seyreder, böylece oluşmuş doku hasarının iyileşmesi mümkün olmaz⁹⁹.

İnflamasyon;

1) Bölgesel kan damarlarında vazodilatasyon ve bölgesel kan akışındaki artışla,

2) Büyük miktarlardaki sıvının intertisyal alana sızmasını sağlayan artmış kapiller permeabilite ile,

3) Kapillerden intertisyal alana sızan fibrinojen ve diğer proteinlere bağlı olarak sıvının pıhtılaşması ile,

4) Çok sayıda granülasitlerin ve monositlerin doku içerisine migrasyonu ile ve

5) Bölgedeki dokuların şişmesi (ödem) ile karakterizedir¹⁰⁰.

İnflamasyona birçok etken neden olabilir. Pro-inflamatuvar uyarıları tetikleyen bu etkenler arasında bakteriyal lipopolisakkarit, mantar, riketsiya, virüs, bağırsak parazitleri, kimyasal etkenler, büyüme hormonu, tümör tetikleyici ajanlar, ısı, yaralanmalar, radyasyon, çeşitli antijen-antikor etkileşimleri örnek olarak verilebilir^{101,102}. İnflamasyon Celsius tarafından ısı, kızarıklık, şişlik (ödem) ve ağrı gibi dört ana klinik bulgu altında tanımlanmıştır. Bu bulgular genel olarak üç temel fazda gerçekleşir.

Akut faz: Lokal vazodilatasyon ve kapiller permeabilitede artışla karakterizedir.

Subakut faz: Lökosit ve fagositik hücrelerin damar dışına difüze olması ile karakterizedir.

Kronik faz: lökositlerin dejenere olmuş doku bölgesine birikmesi, fagositoz ve fibrozis ile karakterizedir^{103,104,105}.

2.3.1. inflamasyon Oluşum Mekanizmaları

İnflamasyondaki temel amaç inflame olmuş dokuya kandan gerekli sıvıyı, hücreleri ve proteinleri taşımaktır. İnflamasyon tetiklendiğinde, kimyasal mesajcılarının salınımı ile bazı temel fizyolojik değişimler gözlenir. İlk olarak inflamasyonun olduğu alandaki kan damarlarının çapı genişler. Damar duvarları damarın kasılmasını veya genişlemesini sağlayan düz kas hücreleri içerirler. Kan damarları genişlemeye başladığında inflamasyon olan dokuya kan akımı artar. Bu yoğun kan akışı inflamasyona uğrayan dokunun kızarması ve ısınması durumunu açıklar. Çoğalmış kan akışı enfeksiyonla savaşması için immun hücrelerin ve dokuyu beslemek için gerekli oksijen ve glukozun inflame alana ulaşmasına, imkan sağlar. İkinci olarak kapillerdeki endotel hücreler büzüşerek protein ve antikor içeren sıvıların kan dolaşımından dokulara sızmasını sağlar¹⁰⁶.

Oluşan doku travmasına bağlı olarak serotonin ve bradikinin hücre membranına etki eder ve prostaglandinler ve lökotrienler serbest hale geçer. Arakidonik asit öncü madde olarak görev yapar. Siklooksijenaz enzimi ile siklik endoperoksitler ve prostaglandinler oluşur. Oluşan prostaglandinler nosiseptif duyarlılığı artırır ve lokal dolaşımda vazodilatasyon oluşturarak inflame bölgeye allogenik madde ulaşımını kolaylaştırır^{107,108}.

İnflamasyon patolojisi, erken döneminde vasküler ve geç döneminde hücrel olaylar olmak üzere iki ana olayı içerir⁹⁸.

i) Vasküler Olaylar:

Vasküler akım ve permeabilite olarak iki grupta incelenebilir.

Vasküler akım ve damar çapındaki değişiklikler:

Arteriollerde oluşan kısa süreli vazodilatasyon ve erken dönemde (akut faz) ısı ve kızarıklık artışına neden olur. Ekstravasküler sıvıya dolaşımdan protein geçişi ile eritrosit stazı meydana gelir ve nötrofiller endotel boyunca toplanır. Daha sonra emigrasyon ile intersisyonel dokuya göç ederler.

Doku hasarından sonra ilk 24 saat içerisinde genellikle nötrofiller endotel membranından geçerler ve burada fagositoz yaparlar, nekrozu parçalarlar. Nötrofiller asıl olarak savunma mekanizmasında önemlidir. Monositler 24-48 saat içerisinde doku hasarı olan bölgeye ulaşırlar ve immun reaksiyonu başlatırlar. İyileşme prosesinde en önemli işi aktive olmuş makrofajlar yaparlar. Makrofajlar ölü dokunun eliminasyonu için büyük önem taşırlar. Bunun yanı sıra ayrıca monokin ve diğer biyolojik mediatörleri serbestleştirirler. Serbest hale gelen bu mediatörler diğer inflamatuvar hücrelerin görevlerini düzenler ve kollajen sentezini başlatmak için fibroblastları uyarırlar. Fibroblastlar konnektif dokudaki mezankimal hücrelerden farklılaşmış özel hücrelerdir. Fibroblastlar yaralanmadan sonraki 3-5 gün içinde asıl fonksiyonları olan kollajen sentezini başlatırlar⁹⁹.

Vasküler permeabilite artışı:

Vazodilatasyona bağılı olarak artmış kan akımı, intravasküler hidrostatik basıncı ve beraberinde kapillerden sıvı filtrasyonunu artırır. Bu sıvı damar duvar geçirgenliğinin artması ile değişir ve proteinden zengin sıvı yani eksudanın kaçmasına neden olur. Bu durum intravasküler ozmotik basıncın azalmasına neden olur ve artan intersisyal ozmotik basınç, intersisyal ödeme neden olur.

ii) Hücresel olaylar:

Lökositlerin temel fonksiyonu hasarlı bölgeye göçleridir. İnflamasyon sürecinde lökosit olayları;

- a) Marjinasyon (damar cidarında toplanma) ve yuvarlanma,
- b) Adezyon
- c) Emigrasyon
- d) Fagositoz ve intravasküler yıkım,
- e) Lökosit ürünlerinin ekstrasellüler salınımıdır.

2.3.1.1. İnflamasyonda rol alan mediyatörler

İnflamatuvar doku yanıtı oluşturulmasında aracılık eden kimyasal mediyatörler aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir⁹⁸.

1- *Vazoaktif aminler*: Histamin, serotonin

2- *Plazma proteazları*:

- a) Kininler: Bradikinin, kallikrein
- b) Kompleman sistemi: C3a, C5a, C5b-9
- c) Koagülasyon-fibrinolitik sistem: fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri

3- *Arakidonik asid metabolitleri*:

- a) Siklooksijenaz yolu (prostaglandinler, tromboksanlar, endoperoksitler),
- b) Lipoksijenaz yolu [lökotrienler, hidroperoksieikozatetraenoik asid (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asid (HETE)],

4- *Lökosit ürünleri*: Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleri,

5- *Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF)*

6- *Sitokinler*

7- *Büyüme faktörleri*

8- Diğer medyatörler

Bu kimyasal mediyatörlerden bazıları aşağıda açıklanmıştır;

Histamin

İnflamasyonun en başında artmış permeabiliteden sorumlu mediyatör olan histamin, daha çok kan damarlarına bitişik olan konnektif dokudaki mast hücrelerinde bulunur. Ayrıca kan bazofilleri ve trombositlerde de bulunurlar. Mast hücrelerinden histamin salınımı, mast hücre degranülasyonuna yol açan çeşitli fiziksel uyarılar (travma ve soğuk, sıcak), mast hücrelerine antikor bağlanmasını içeren otoimmün olaylar, anafilatoksin diye adlandırılan kompleman fragmanları, nötrofillerden salınan katyonik lizozomal proteinler ve bazı nöropeptidler aracılığıyla olur. Bu uyarılar mast hücrelerden histamin salınımına, böylece arteriolar dilatasyon ve venüllerin vasküler geçirgenliğinin artmasına neden olur. H₁, H₂, H₃ olarak bilinen üç adet histamin reseptörü vardır. H₁ ve H₂ reseptörleri damar düzkaslarında bulunur ve her ikisinin aktivasyonu da çoğu damar yataklarındaki vazodilatasyondan sorumludur¹⁰⁹. Histamin, eozinofiller için de kemotaktik rol oynar ve hemen histaminazla inaktive edilir.

Serotonin

Trombositlerde ve mast hücrelerinde granüllerde bulunurlar. Trombositlerden serotonin çıkışını takiben, kollagenle temas veya antijen-antikor kompleksleri ile temastan sonra uyarılır. IgE (immunglobulin E) aracılı reaksiyonlarda mast hücrelerinden kaynaklanan TAF,

trombositlerden histamin ve serotonin salınımına ve trombosit agregasyonuna neden olur⁹⁸.

Kininler

Prekallikrein, Hageman faktörün (Faktör 12) aktive olması ile kallikreine döner. Kallikrein kemotaktik ve invitro olarak nötrofil agregasyonunda etkilidir. Kallikrein, yüksek molekül ağırlıklı kininojeni (HMWK) vazoaaktif etkili bradikinine dönüştürür. Oluşan bradikinin arteriolar dilatasyona, vasküler permeabilite artışına neden olmaktadır. Bradikinin cilde enjekte edilirse ağrıya neden olur⁹⁸.

Sitokinler

Polipeptid yapıdaki sitokinlerden en önemlileri interlekinler (IL) ve tümör nekroz faktör-alfadır (TNF- α). İkisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar. İmmün kompleksler, toksinler, fiziksel incinmeler ve çeşitli inflamatuvar olaylarla uyarılabilir. IL-1 ve TNF- α , ateş oluşumu, iştah kaybı gibi sistemik reaksiyonları tetikler, lökosit adezyonu, prokoagülan aktivite ve TAF aktivasyonu gibi endotelial etkilere neden olurlar. Ayrıca kollajen sentezi ve fibroblast artışına neden olurlar⁹⁸.

Doku hasarı ve iltihaplanması sonucu nosiseptörlerin periferik sonlarındaki kimyasal çevrelerinde bazı değişimler meydana gelir. Hasarlı hücrelerden hasarı iyileştirmek için adenosin trifosfat ve K iyonları, pH azalması ve sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörü gibi mediyatörler salıverirler¹¹⁰. Hasarlı hücrelerden salınan mediyatörler, nötrofil, lökosit ve

plazma proteinlerinin hasarlı bölgeye ulaşmasını sağlayarak bölgesel inflamatuvar eksuda oluşumunda rol alırlar. Genellikle doku makrofajlarınca salgılanan sitokinlerin etkisi ile nötrofiller aktive olarak, fagositoz yapar.

Bu faktörlerden bazıları serbest sinir uçlarının son kısımlarını (terminallerini) aktive edip ağrıyı geliştirmek için rol oynarlar (nosiseptör aktivasyonu). Diğerleri de bu terminal bölgelerin hassasiyetini artırarak daha sonraki ağrılar için nosiseptörleri hipersensitif hale getirirler (nosiseptör hassaslaşması, duyarlılaşması)¹¹¹. Bir prostanoid olan prostaglandin E₂ ve büyüme faktörü, nosiseptör aktivasyonu yapmadan nosiseptör sonlarının hassasiyetini değiştirmek için G-protein-bağlı prostaglandin ve tirozin kinaz A reseptörlerine doğrudan bağlanırlar¹¹². Bradikinin esas olarak B₂ reseptörleri üzerinden nosiseptörleri aktive eder ve duyarlı hale getirir. B₁ bradikinin reseptörleri sadece inflamasyon veya hasar gibi durumlar karşısında uyarılırlar¹¹³.

2.3.1.2. Arakidonik Asit Ürünleri ve İnflamasyon

Bu ürünler inflamatuvar stimulus veya C5a gibi mediyatörlerle fosfolipaz aktivasyonu yoluyla membran fosfolipidlerinden açığa çıkan yağ asitleridir⁹⁸.

Hücre membranının ana bileşeni fosfolipidler fosfolipaz A₂ ve C ile arakidonik asite yıkılırlar. Arakidonik asit, memelilerde prostaglandinlerin temel prekürsörüdür ve fosfolipaz A₂ ve fosfolipaz C nin etkileri ile hücre membranına birleşiktir. Bu fosfolipazlar hücre içi ve

hücreler arası mediyatörlerin değişmesi ile aktive olurlar. Arakidonik asit **siklooksijenaz** (COX; Prostaglandin endoperoksit sentaz; Yağ asiti siklooksijenazı; Prostaglandin H sentaz) enzimi ile siklik endoperoksitler olan sırasıyla PGG₂'ye ve daha sonra PGH'ye dönüşür¹⁰¹. Bu prokürsürlerden prostanoidler oluşmaktadır. Oluşan prostanoidler immün, kardiovasküler, gastrointesitinal, renovasküler, pulmoner sistemleri ve santral sinir sistemini etkilemektedir⁷⁸. Ayrıca iltihaplı dokuda arakidonik asitten **lipoksijenaz enzimi** ile hidroperoksi yağ asitlerinin (HPETE), monohidroksi yağ asitlerinin (HETE) ve lökotrienlerin (LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄) miktarı artmaktadır.

Siklooksijenaz Yolağı

COX-1 ve COX-2 71kD moleküler ağırlığında ve %63 amino asit sekansı aydınlatılmış membran-bağılı olan enzimlerdir. Memelilerde COX enziminin, bir temel formu (COX-1) ve bir uyarılabilir formu (COX-2) olarak iki izoforma sahip olduğu bilinmektedir. Yapılan son çalışmalarda siklooksijenaz enziminin üçüncü bir formu olan COX-3 keşfedilmesine rağmen bu enzim hakkında yeterli bilgi henüz mevcut değildir^{98,114}. COX-1 ve COX-2'nin büyük miktarı endotelial hücrelerden, plateletlerden ve böbrek tübül hücrelerinden üretilir. Bazal koşullar altında COX-1 ve COX-2, nöronlar ve ayrıca nöron olmayan glial hücrelerde bulunmuştur¹⁰¹. COX-2 enzimi interlekin-1 α ve interlekin-6, tümör nekroz faktörü (TNF α) gibi iltihap mediyatörleri ve büyüme faktörleri (PDGF, EGF), PAF, serotonin ve ayrıca sürtünme stresi (shear stress) tarafından aktivasyonu ile indüklenir ve sentez edilir^{109,115}.

Siklooksijenaz proteini hem siklooksijenaz hem de peroksidaz etkinliği gösterir. Birinci etkinlik hücre membranlarındaki

arakidonik asitten siklooksijenaz enzimi ile ilk olarak prostaglandin G_2 (PGG_2) oluşmasını, ikinci etkinlik ise daha sonra peroksidaz ile PGH_2 oluşmasını katalize eder. PGH_2 daha sonra dokuya göre miktarı farklılık gösterebilen spesifik enzimlerle daha stabil olan PGI_2 (prostasiklin), tromboksan A_2 (TXA_2), PGE_2 , PGD_2 , $PGF_{2\alpha}$ 'ya dönüşürler (Şekil 6). Daha çok monositler, makrofajlar ve plateletler tarafından üretilen TXA_2 kuvvetli vazokonstriktör ve trombosit agreganıdır. Akut vasküler tıkalıcı olaylarda önemli rol oynamaktadır^{98,109,114,116}. PGI_2 ise endotelde ve az miktarda olmak üzere damar düz kas hücrelerinde bulunur¹⁰⁹. TXA_2 'ye göre zıt etki oluşturarak güçlü bir vazodilatör etki gösterir ve trombosit agregasyonunu bloke eder⁹⁸. Tromboksanlar ve prostasiklinler, trombositleri zıt yönde etkileyen ve onların agregasyonunu ve adezyonunu düzenleyen bir sistem oluştururlar¹⁰⁹.

Prostaglandinler (PG) karbon zincirinin ortasında bir siklopentan halkası bulunan eikozanoidlerdir. Farklı hücre tiplerinde farklı oranlarda bulunurlar ve farklı aktivitelere sahiptirler. PGE_2 vazodilatör etkiye sahiptir. Kapiller permeabiliteyi ve ağrıya duyarlılığı da artırır. Vazodilatör etkisi esas olarak arteriyoller ve prekapiller sfinkterleri genişletmesine bağlıdır. PGE_2 proinflatuar ve hiperalezik etki yönünden en güçlü prostanoiddir. İltihap oluşumunda önemli rolü olan PGE 'ler;

a) Damar permeabilitesini artırır, kızarıklık, ödem ve ağrı gibi belirtilere neden olurlar.

b) Lökositlerin doku içerisine infiltrasyonuna neden olurlar (lökotaktik etki)

c) İltihaplı dokuda salıverilen histamin, serotonin ve bradikinin gibi otokoidlerin etkilerini potansiyalize ederler.

Lipoksijenaz yolağı

Arakidonik asitin bir diğerk metabolizma yolağı lipoksijenaz yolağıdır. Arakidonik asit lipoksijenaz enzimleriyle hidroperoksiasitlere (HPETE) ve lökotrienlere (LTB₄, LTC₄, LTD₄ ve LTE₄) dönüşür (Şekil 6). Lipoksijenaz enzimi daha çok olmak üzere iki ana forma sahiptir¹¹⁷. Ayrıca arteriyel endotel hücrelerinde bulunan 15-lipoksijenaz enzimi bulunmaktadır¹⁰⁹. 5-lipoksijenaz enzimiyle AA'den, HPETE ve ondan da kemotaktik olan HETE ve vazoaaktif LT'ler oluşur. LTA₄ lökotrienler arasında ilk oluşandır ve LTA₄'ün hidrolizi ile diğerk lökotirenler (LTB₄, LTC₄, LTD₄ ve LTE₄) oluşur⁹⁸. eozinofiller, monositler, makrofajlar gibi hücrelerde bulunan 5-lipoksijenaz enzimi ve daha çok trombositlerde bulunan 12-lipoksijenaz enzimi

Lipoksijenazların prekürsör yağ asidlerinden birinci aşamada oluşturdukları hidroperoksi türevi ara ürünler (HPETE'ler)'den hidroksi türevi ara ürünler (HETE'ler) ve onlardan da lökotrienler meydana gelir¹⁰⁹.

5-lipoksijenazın 15-HPETE'yi etkilemesi sonucu lipoksinler (lipoksin A4 ve lipoksin B4) oluşur. Lipoksinler lökositlerde, ateroskleroz plaklarında oluştuğı saptanılmıştır. Lipoksinler sitokinler ve büyüme faktörü sentezini artırır. Vazodilatör etkinliğı yanı sıra inflamatuvar ve hemodinamik cevapların düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir¹⁰⁹.

Lökotrienler pro-inflamatuvarlardır ve mikrovasküler permeabiliteyi artırır. Lökotrienlerden potent bir kemotaktik ajan olan LTB_4 , eizonafillerin, nötrofillerin ve monositlerin iltihaplı dokuya kemotaksisini indükler, pro-inflamatuvar sitokin üretimini ve süperoksit oluşumunu artırır¹¹⁸. LTB_4 ayrıca vazokonstriksiyon yapar, kapiller permeabiliteyi artırır ve hiperalejiye neden olur. İnsan nötrofil lokositlerinde süperoksit anyonunun üretimini artırır; inflamatuvar reaksiyona bu nedenle katkıda bulunabilir. LTC_4 $sisLT2$ reseptörleri ve LTD_4 ve LTE_4 $sisLT1$ reseptörleri üzerinden etki gösterirler. Her iki reseptör de damar düz kaslarını büzer. LTD_4 en güçlü bronkokonstriktör ve kapiller permeabilite artırıcıdır. Postkapiller venüllerden plazma sıvısının dokuya sızmasına ve ödem oluşmasına neden olur¹⁰⁹. Lökotrienlerin ayrıca psöriyazisteki iltihap durumunda rol aldıkları düşünülmektedir.

Şekil 6. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolakları¹⁰⁹. (LOaz, lipoksijenaz; HPETE, hidroperoksiiekozatetraenoikasıit; LTA4,LTB4, LTC4, LTD4, LTE4, LTF4, lökotrien A4,B4,C4,D4,E4,F4; PG, prostaglandin).

2.3.2. İnflamasyon Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Ağrı yapıcı etkenler, dokudaki tahriş ve zedelenme ve ayrıca immünolojik reaksiyonlar lokal arakidonik asitten prostasiklin, prostaglandinler ve lökotrienlerin sentezini artırır¹⁰⁹. İnflamasyon tedavisinde, inflamasyona katkıları bulunan prostaglandinler ve lökotrienlerin sentezini inhibe eden maddeler bulunmuş (NSAİ) ve bu maddeler günümüzde tedavide kullanılmaktadır.

Pirazolon Türevi NSAİ İlaçlar

Bu grup ilaçlar genel olarak düşük antiinflamatuvar etki göstermelerine karşın, yüksek analjezik ve antipiretik etki gösterirler. Bu grupta yer alan ilaçlardan *aminopirin*, *propifenazon*, *metamizol sodyum* (*dipiron*) güçlü analjezik etkiye sahiptir. *Fenilbutazon* ve *oksifenbutazon* ise güçlü antiinflamatuvar etkiye sahiplerdir. Bu grupta ilk bulunan ilaç antipirindir ancak ciddi ilaç toksitesinden dolayı günümüzde kullanılmamaktadır. Dipiron ve propifenazon halen günümüzde kullanılmaktadır.

1982 yılına kadar aspirinden sonra analjezik ve antiinflamatuvar olarak en çok kullanılan ilaç aminopirin idi. Aminopirin midenin asit ortamında kansorejen olan dimetilnitrozamine dönüştüğünden kullanımı yasaklanmıştır ve müstahzarlarına onun yerine aynı miktarda propifenazon konulmuştur. Propifenazon aynı analjezik etkiye sahip olduğu düşünülmekte olan ve kansorejenik etki potansiyeli dışında aminopirinin bütün yan etkileri göstermesi beklenen bir ilaçtır.

Yaklaşık yarım yüzyıldır kullanılan metimazol sodyum siklooksijenaz inhibitörü etkinliği ve antiinflamatuvar etkinliği zayıf, analjezik etkinliği yüksek bir ön-ilaçtır. Analjezik etkisinin santral bir komponentinin olduğu bulunmuştur. Periakvaduktal gri maddeden omuriliğe inen ağrı inhibitörü yolları aktive eder.

Bu grup ilaçların tamamında ciddi yan etkiler gözlenmektedir.

1- Kemik iliği depresyonu: Bu ilaçlar kemik iliğini bozarak alerjik agrenilositoz, trombositopeni ve aplastik anemi meydana getirirler. İlacın kullanılma süresine göre ve ırksal farklılığa bağlı olarak bu yan etkinin insidansı farklılık göstermektedir.

2- Su ve tuz retansiyonu: Bu yan etki böbrek tübüllerinde prostaglandin sentezinin inhibisyonuna bağlıdır ve daha çok fenilbutazon ve oksifenbutazon kullananlarda gözlenmektedir. Bu etkiye bağlı olarak plazma hacmini %50 oranında artırdıkları, ödem oluşturdıkları ve kalp yetmezliğine yatkınlığı olanlarda yetmezliği belirgin hale getirdikleri bildirilmiştir¹⁰⁹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneylerde Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Serum Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilen

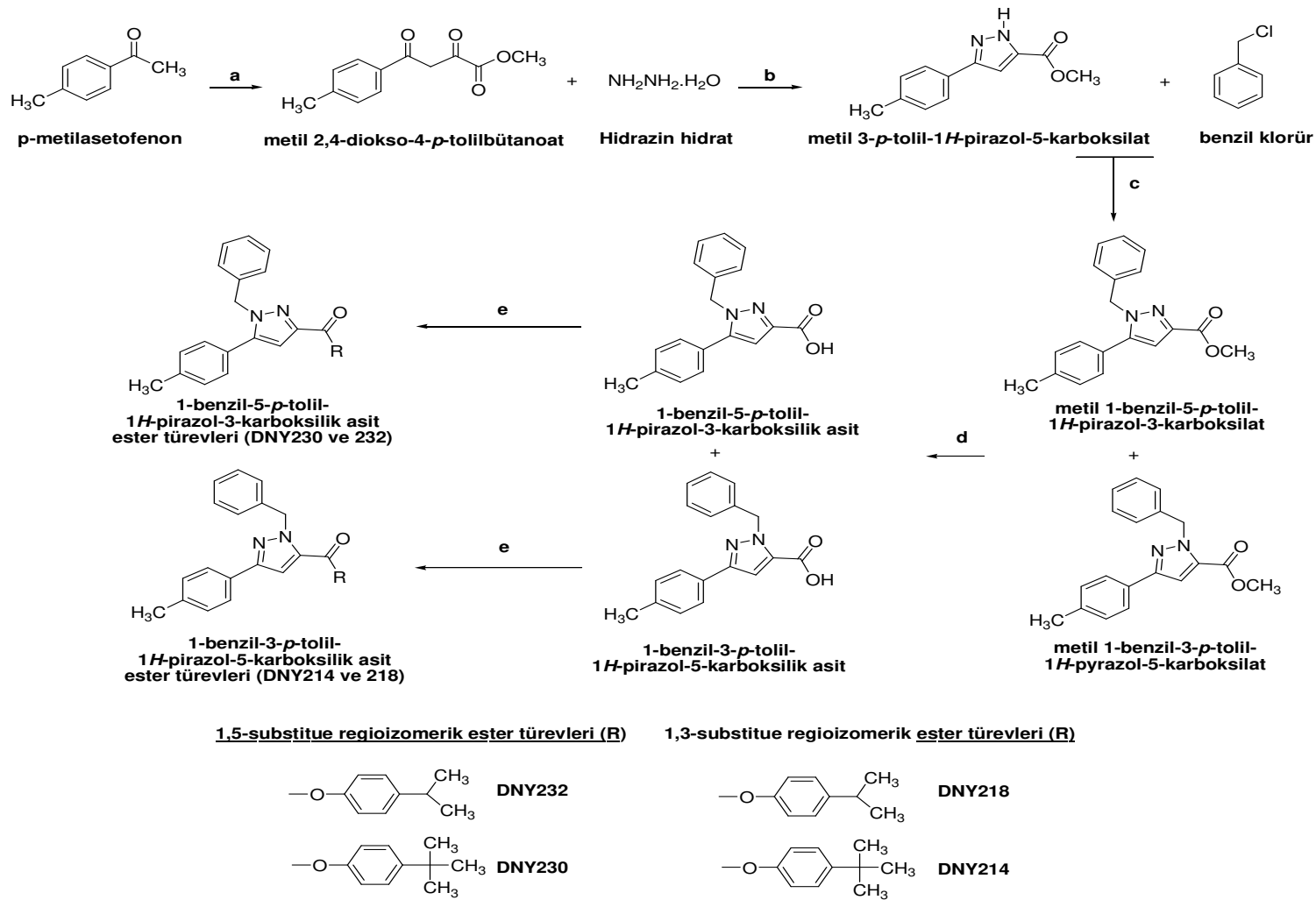
25-35g ağırlığında, Swiss, albino erkek fareler kullanılmıştır. Deney hayvanları deneye alınmadan en az bir hafta önce sıcaklığın ($22\pm1^{\circ}\text{C}$), nemin ($\%55\pm10$) ve aydınlık periyodunun (12'şer saat aydınlık ve karanlık) ayarlandığı odalarda tutularak senkronize edilmiştir. Deney boyunca farelere 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 klavuzuna 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 7).



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, fenol türevi, oda sıcaklığı

Şekil 7. Deneylerde kullanılan test maddelerinin (DNY214, DNY218, DNY230, DNY232) sentez basamakları.

3.2.2. Diğer Kimyasal Maddeler

p-Benzokinon (p-BK) (CAS: 106-51-4, Sigma, USA)
Serum fizyolojik (SF) (%0.9 NaCl) (Haver, Türkiye)
DMSO (Sigma Aldrich, USA)
Karragenin (Carrageenan, λ, Tip I, Santa Cruz, İspanya)
İndometazin (Sigma Aldrich, USA)
Ibuprofen (Sigma Aldrich, USA)
Asetilsalisilik asit (Sigma Aldrich, USA)
Distile su

3.3. ARAÇ VE GEREÇLER

Hassas terazi
Ultrasonik banyo
Vorteks
Kompas (mikrometre) 0.01mm, (Ozaki Co., Japonya)
Hamilton Enjektör (50µl)
Tek uçlu ve depolu otomatik pipetler
Pipet uçları
Zaman ölçer
Parafilm
Steril enjektör (1, 2, 5, 10 ve 20 ml)
İnsülin enjektörü
Balonjoje (50 ml)
Erlen (50 ml)
Cam tüp (10 ml)
Plastik tüp (10 ml)

Alüminyum folyo
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 SF'de çözülen p-BK (2.5mg/kg) i.p. olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 9-14 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 kıvrınmaları arasındaki fark bulunarak delta değeri elde edilmiştir.

Grup 2: Asetil salisilik asit (ASA) (100mg/kg, s.c.) grubu.

Grup 3: DNY214 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: DNY218 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: DNY230 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: DNY232 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Antiinflamatuvar Aktivite Deneylerinde Kullanılan Gruplar

Deneyde kullanılan test maddeleri 100mg/kg dozda subkutan (s.c.) olarak, karageninden yarım saat önce verilmiştir. Antiinflamatuvar aktivite deneylerinde sağ arka pençeye karagenin (25µl/pençe, %1 a/h), sol arka pençeye serum fizyolojik (%0.9 NaCl) eşit hacimlerde intraplantar olarak uygulanmıştır. Tüm deney gruplarında 9-14 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: İndometazin (İNDÖ) (10mg/kg, s.c.) grubu.

Grup 3: DNY 214 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 4: DNY 218 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 5: DNY 230 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

Grup 6: DNY 232 kodlu madde (100mg/kg, s.c.) grubu

3.4.2. Kıvrınma Aljezi Yöntemi

Analjezik aktivite tayininde, Okun ve arkadaşları tarafından 1963'de tanımlanan p-Benzokinon (p-BK) ile oluşturulan abdominal konstriksiyon (Kıvrınma, Writhing) testi kullanılmıştır^{119,120}. Farelerde aljezi oluşturmak amacı ile 2.5 mg/kg 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.

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

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 karragenin ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli kullanılmıştır^{120,121}. Test maddeleri ve DMSO'nun s.c. olarak uygulanmasından 30 dakika sonra, farelerin sağ ve sol pençeleri kompas (mikrometre) yardımı ile ölçüldü (0.01 mm hassasiyet ile). Her farenin sağ pençesine subplantar olarak serum fizyolojik içerisinde taze hazırlanan karagenin süspansiyonu (0.5mg/25µl) enjekte edilmiştir. Her farenin kendi kontrolü için sol arka pençesine subplantar olarak 25µl SF enjekte edilmiştir. Karagenin 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 hesaplanmıştır¹²².

3.4.4. Mortalite ve ülserojenik aktivite ölçümü

Deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm farelerin mortalite kayıtları tutulmuş ve mortalite yönünden akut toksik etki olup olmadığına bakılmıştır. 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.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

p-BK ile oluşturulan kıvranma aljezi modelinde % antinosiseptif aktivite ve karagenin 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 kıvrınma sayıları ve gerekse % antinosisseptif aktivite ve % antiinflamatuvar aktivite değerlerinin istatistiksel anlamlılık testleri için tek yönlü ANOVA uygulanmıştır.

i) Varyans analizinde gruplar arası farklılık olduğunda (% antinosisseptif 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) Tek yönlü varyans analizleri ve post-hoc testler, Instat (1990-1993) V2.04a Graphpad paket programı yardımı ile çözümlenmiştir.

4. BULGULAR

Deneylerde kullanılan pirazol-3-karboksilik asit ester türevlerinin hazırlanışı ve sentez prosedürü Şekil 7’de gösterilmiştir. Yapılan farmakolojik çalışmalarda sentezlenen maddelerin (DNY214, DNY218, DNY230, DNY232) ve referans maddelerin (Asetil salisilik asit: ASA ve İndometazin: İNDO) analjezik ve antiinflamatuvar aktiviteleri, ülserojenik potansiyelleri ve akut toksisiteleri (mortalite yönünden) incelenmiştir.

4.1. KULLANILAN MADDELERİN OLUŞTURDUKLARI ANTİNOSİSEPTİF 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 8). Kontrol grubu ve DMSO (çözücü) grubu kıvranma sayıları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Bu nedenle test maddelerin karşılaştırılması için DMSO grubu kontrol olarak değerlendirilmiştir.

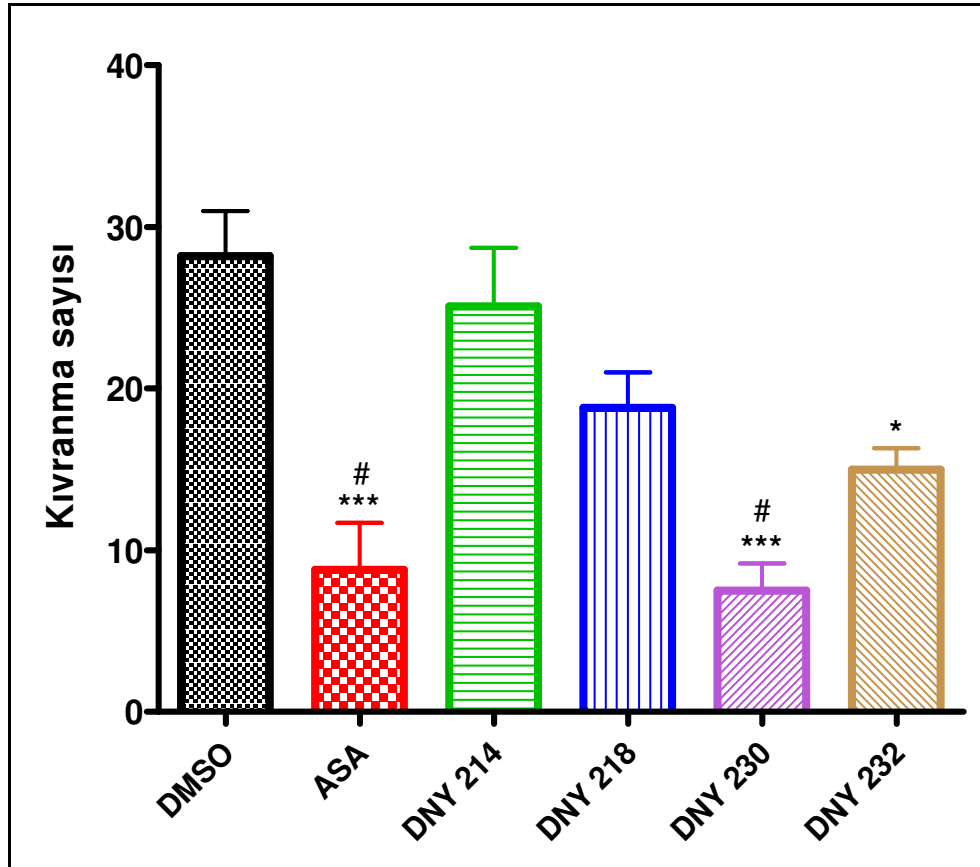
Asetil Salisilik Asit (ASA)'nın etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde ASA (100mg/kg, s.c.) verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 8.8 ± 2.9 (n=13) olarak bulunmuştur (Şekil 8). ASA verilen grupta kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p < 0,0001$). ASA için antinosiseptif aktivite $\%68.9 \pm 10.1$ (n=13) olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).

DNY 214'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde DNY 214 (100mg/kg, s.c.) verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 25.1 ± 3.6 (n=7) olarak bulunmuştur (Şekil 8). DNY 214 verilen grupta kıvrınma sayıları kontrole göre farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). DNY 214 için antinosiseptif aktivite $\%10.9 \pm 12.8$ (n=7) olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).

DNY 218'ün etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde DNY 218 (100mg/kg, s.c.) verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 18.8 ± 2.2 (n=8) olarak bulunmuştur (Şekil 8). DNY 218 verilen grupta kıvrınma sayıları kontrole göre farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). DNY 218 için antinosiseptif aktivite $\%33.5 \pm 7.8$ (n=8) olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).

DNY 230'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde DNY 230 (100mg/kg, s.c.) verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 7.5 ± 1.7 (n=8) olarak bulunmuştur (Şekil 8). DNY 230 verilen grupta kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p < 0,0001$). DNY 230 için antinosiseptif aktivite $\%73.4 \pm 6.0$ (n=8) olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).

DNY 232'nin etkileri; p-BK'dan 30 dakika önce 0,05ml/10g fare olacak şekilde DNY 232 (100mg/kg, s.c.) verilmiştir. Kıvrınma sayıları (p-BK'dan sonra 15 dakika boyunca) 15.0 ± 1.3 (n=8) olarak bulunmuştur (Şekil 8). DNY 232 verilen grupta kıvrınma sayıları kontrole göre istatistiksel anlamlı olarak daha az bulunmuştur ($p < 0,01$). DNY 232 için antinosiseptif aktivite $\%46.8 \pm 4.7$ (n=8) olarak hesaplanmıştır (Tablo 3).



Şekil 8. Farelerde p-BK (parabenzokinon) ile oluşturulan kıvrınma aljezi modelinde, asetil salisilik asit (ASA) ve test maddelerinin (100mg/kg, s.c.) uygulamaları ile oluşan kıvrınma sayıları (Ortalama±SH, n=10-14). *Kontrol (DMSO) grubu ile farklı (* $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$), #DNY 214 grubu ile farklı (# $p < 0.01$).

4.2. KULLANILAN MADDELERİN FARE PENÇE ÖDEMI ÜZERİNDE ETKİLERİ

Yapılan ön deneylerde test edilecek maddelerin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun karagenin (CG, Tip I, λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h), ile pençede oluşturulan ödem üzerine etkilerini inceledik. CG'den 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 maddelerinin 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.

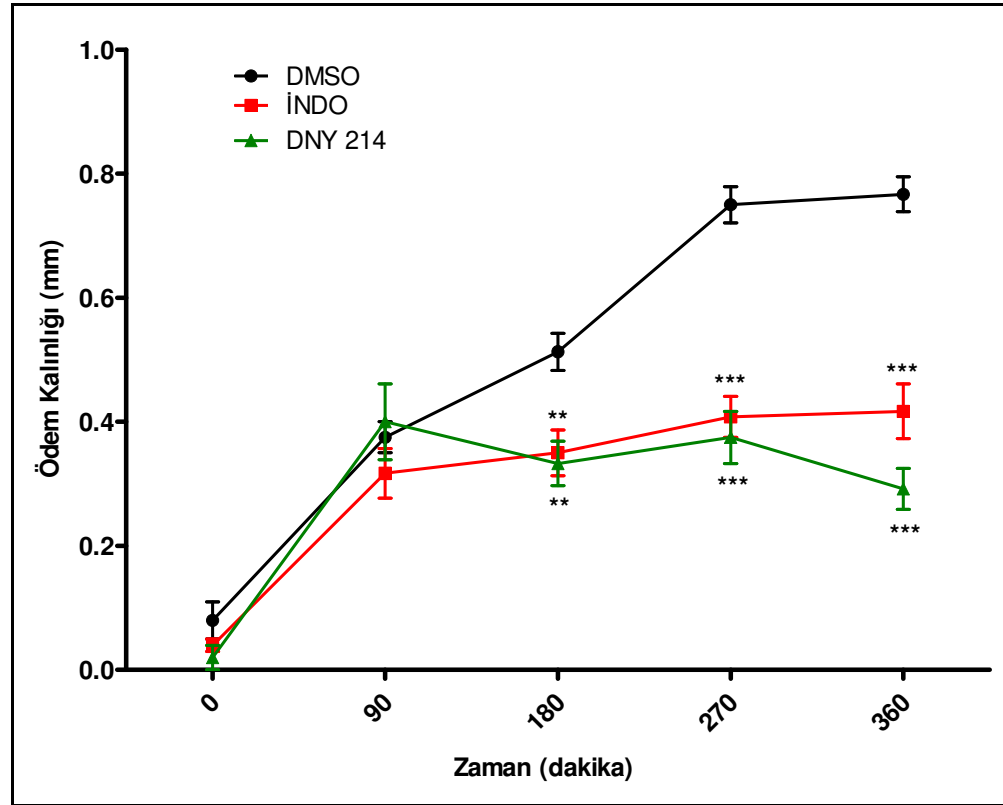
4.2.1. KULLANILAN MADDELERİN OLUŞTURDUKLARI PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ

Antiinflamatuvar aktivite ölçümlerinde karagenin 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 karagenin ile oluşan ödemin zamanla değişimleri aşağıda verilmiştir.

4.2.1.1. DNY 214'ÜN OLUŞTURDUĞU PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ VE KONTROLLE KARŞILAŞTIRMASI

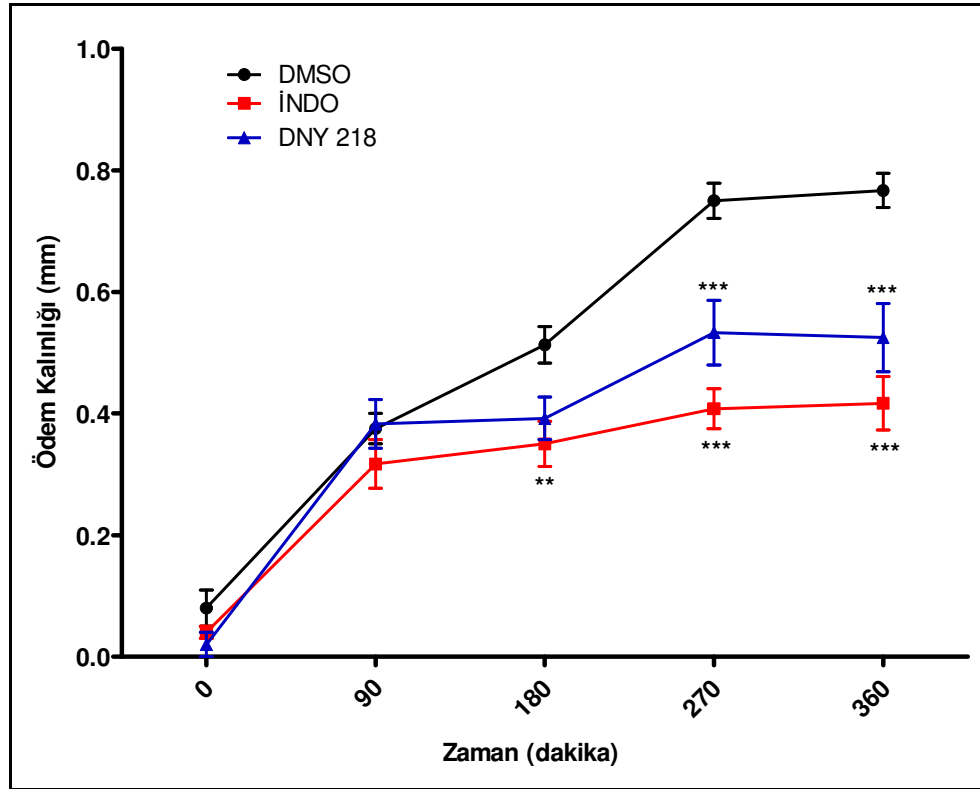
DNY 214 (100mg/kg, s.c.) fare pençe ödemi için özellikle 180-360. dakikalar arasında istatistiksel anlamlı olarak azaltmıştır. DNY 214'ün etki profili referans madde indometazin ile benzer bulunmuştur (Şekil 9).



Şekil 9. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 214 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). İNDO; İndometazin (10mg/kg), DNY 214 (100mg/kg) ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) subkütan olarak CG'den 30 dakika önce verilmiştir. *DMSO'dan farklı (** p<0,001, *** p<0,0001).

4.2.1.2. DNY 218'İN OLUŞTURDUĞU PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ VE KONTROLLE KARŞILAŞTIRMASI

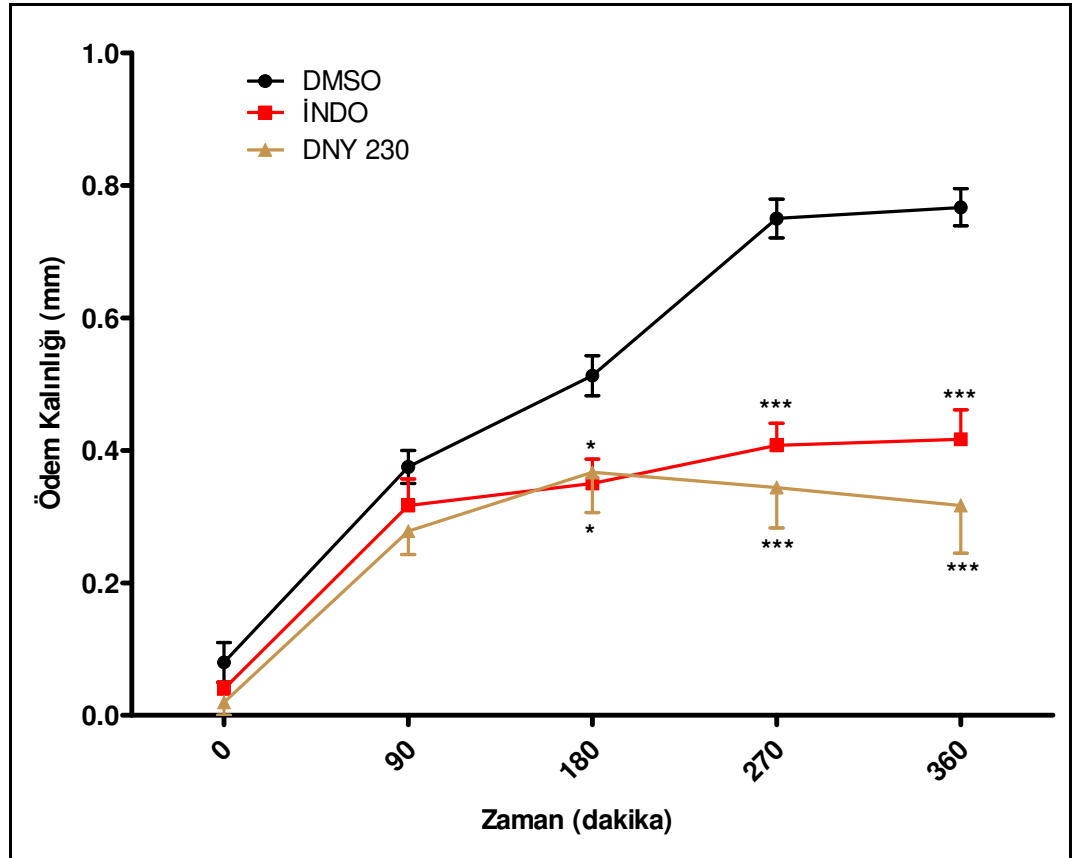
DNY 218 fare pençe ödemi özellikle 270-360. dakikalar arasında istatistiksel anlamlı olarak azaltmıştır. DNY 218'in etki profili referans madde indometazin ile benzer bulunmuştur (Şekil 10).



Şekil 10. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 218 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). İNDO; İndometazin (10mg/kg), DNY 218 (100mg/kg) ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) s.c. olarak CG'den 30 dakika önce verilmiştir. *DMSO'dan farklı ($p < 0,001$, *** $p < 0,0001$).

4.2.1.3. DNY 230'UN OLUŞTURDUĞU PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ VE KONTROLLE KARŞILAŞTIRMASI

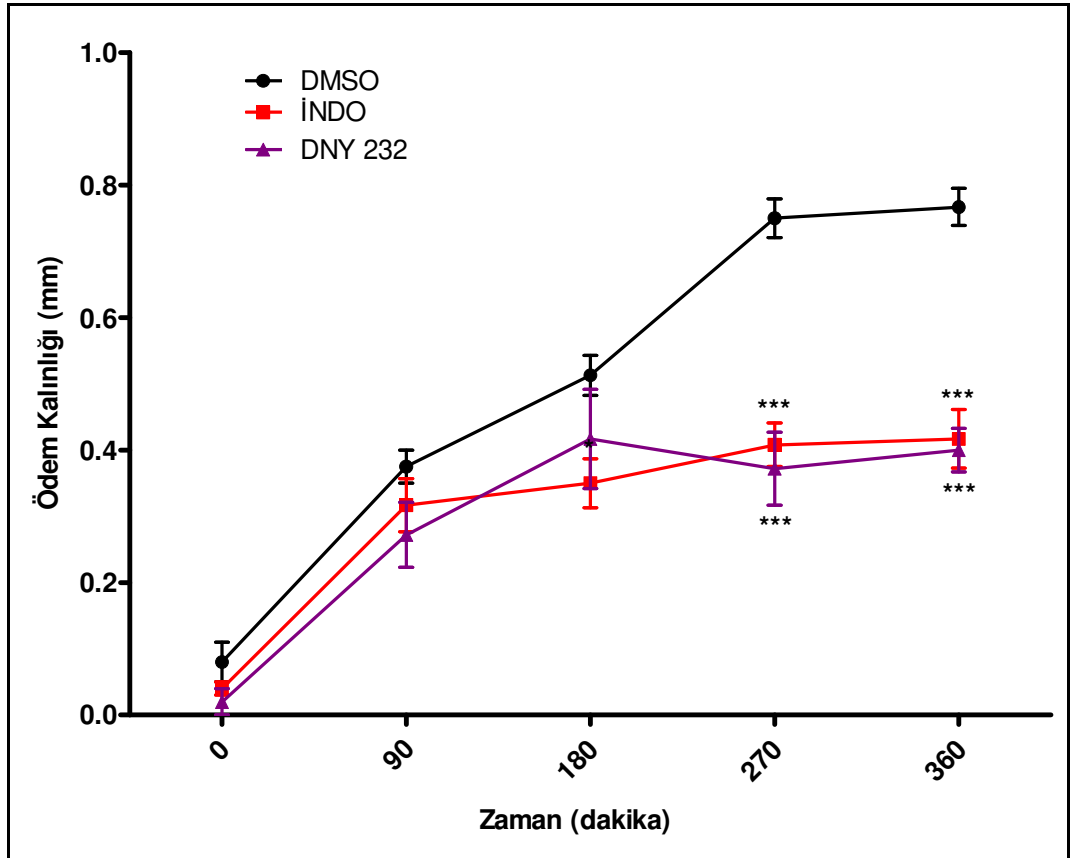
DNY 230 fare pençe ödemi özellikle 180-360. dakikalar arasında istatistiksel anlamlı olarak azaltmıştır. DNY 230'un etki profili referans madde indometazin ile benzer bulunmuştur (Şekil 11).



Şekil 11. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 230 ve İNDO'nun etkilerinin zamanla değişimi. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). İNDO; İndometazin (10mg/kg), DNY 230 (100mg/kg) ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) s.c. olarak CG'den 30 dakika önce verilmiştir. *DMSO'dan farklı ($p < 0,01$, *** $p < 0,0001$).

4.2.1.4. DNY 232’NİN OLUŞTURDUĞU PENÇE ÖDEMİNİN ZAMANLA DEĞİŞİMİ VE KONTROLLE KARŞILAŞTIRMASI

DNY 232 fare pençe ödemi özellikle 270-360. dakikalar arasında istatistiksel anlamlı olarak azaltmıştır. DNY 232’nin etki profili referans madde indometazin ile benzer bulunmuştur (Şekil 12).



Şekil 12. Farede karagenin (carrageenan; CG, Tip I λ , 25 μ l/pençe, %1 a/h) ile oluşan pençe ödeminde DNY 232 ve İNDO’nun etkilerinin zamanla değişimi. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=10-14). İNDO; İndometazin (10mg/kg), DNY 232 (100mg/kg) ve aynı volümde saf Dimetil Sülfoksit (DMSO) s.c. olarak CG’den 30 dakika önce verilmiştir. *DMSO’dan farklı ($p<0,01$, *** $p<0,0001$).

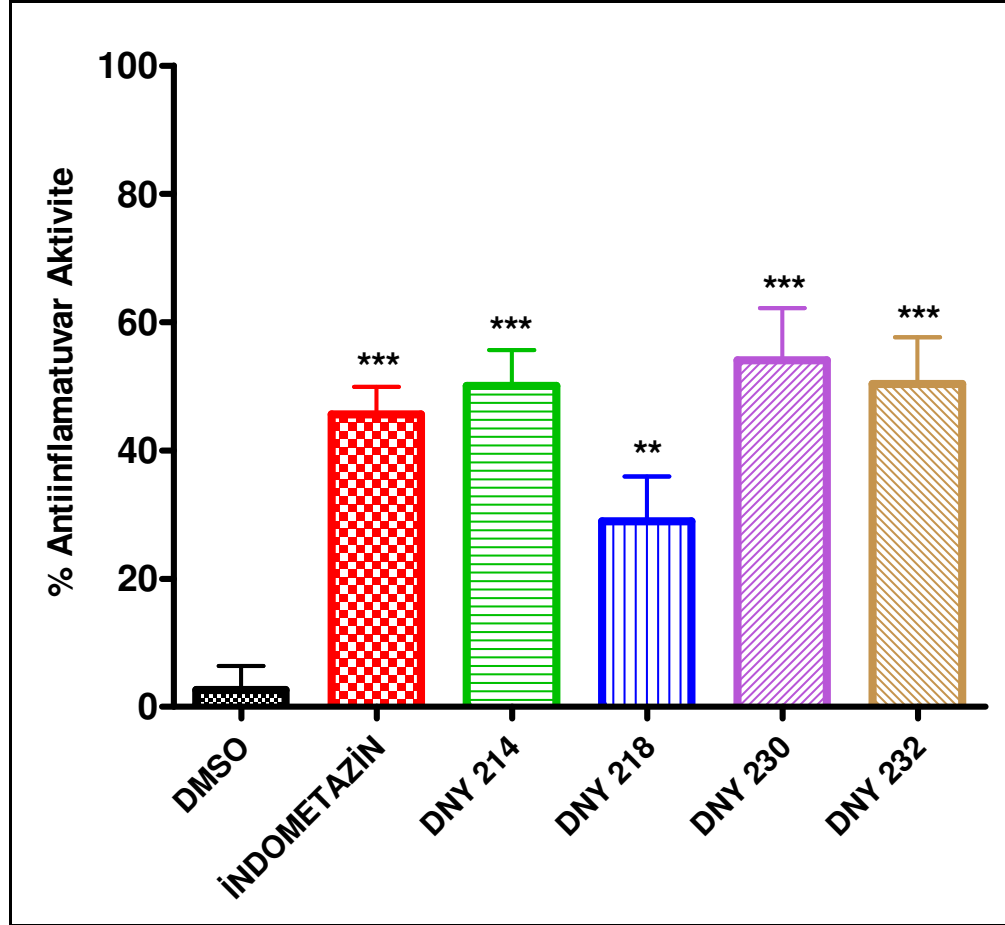
4.2.2. KULLANILAN MADDELERİN İNFLAMASYONUN II. FAZINDA OLUŞTURDUKLARI % ANTIİNFLAMATUVAR AKTİVİTELER

Literatürle uyumlu olarak, karagenin ile oluşan ödemin zamanla değişimi incelendiğinde CG enjeksiyonundan yaklaşık dört saat sonra ödem oluşumunun plato yaptığını gözlemledik. Deneylerimizde, inflamasyon karakterine uygun biçimde daha çok siklooksijenaz ve lipoksijenaz yolakları ürünlerinin rol aldığı zaman dilimi (faz II) için 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 214 için; 50.00 ± 5.64 (n=6), DNY 218 için; 28.89 ± 7.03 (n=6), DNY 230 için; 54.07 ± 8.12 (n=9) ve DNY 232 için; 50.37 ± 7.30 (n=9) olarak bulunmuştur (Şekil 13, Tablo 3).

Tüm test maddelerinin % antiinflamatuvar aktiviteleri DMSO grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,0001$). DNY 214, DNY 230 ve DNY 232'nin antiinflamatuvar etkileri en az referans maddemiz (indometazin) kadar yüksek bulunmuştur.

DNY 218 maddesinin antiinflamatuvar aktivitesi diğer test maddelerinden daha düşük olmasına rağmen gerek diğer test maddelerimizden gerekse referans maddemizden anlamlı olarak farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 13).



Şekil 13. Farede karagenin (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 aktiviteleri. Sonuçlar pençe kalınlıkları arasındaki farkların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası şeklinde verilmiştir (Ortalama $\pm$ SH, n=8-14). *DMSO'dan farklı (**p<0.001, ***p<0.0001).

4.2.3. KULLANILAN MADDELERİN ÜLSEROJENİK AKTİVİTE VE AKUT TOKSİSİTE DEĞERLERİ

Deneylerden sonra 48 saat süre ile tüm farelerin mortalite kayıtları tutulmuş ve tüm maddelerin (DMSO, indometazin (10mg/kg), DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 (100 mg/kg)) kullanılan dozlarında hiçbir ölüm vakasına rastlanmamıştır. Bu durumda mortaliteye sebep olacak akut bir etkinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

Tablo 3. Test edilen maddelerin % antinosiseptif 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 214	10.9 $\pm$ 12.8	37.50 $\pm$ 4.23 (%50.00)	1/6
DNY 218	33.5 $\pm$ 7.8	53.33 $\pm$ 5.27 (%28.89)	0/6
DNY 230	73.4 $\pm$ 6.0	34.44 $\pm$ 6.09 (%54.07)	1/6
DNY 232	46.8 $\pm$ 4.7	37.22 $\pm$ 5.47 (%50.37)	1/6

Deneylerde elde edilen veri ortalama $\pm$ SH olarak gösterilmiştir. Test maddeleri ve ASA 100mg/kg, indometazin ise 10mg/kg dozda, subkütan olarak p-BK veya karagenin'den 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 (10mg/kg) ile 2/6, ASA (100mg/kg) ile 4/6, DNY 214 (100mg/kg) ile 1/6, DNY 230 (100mg/kg) ile 1/6 ve DNY 232 (100mg/kg) ile 1/6 oranlarında peteşi gözlenmiştir. DNY 218 (100mg/kg) verilen sıçanlarda herhangi bir ülserojenik aktivite gözlenmemiştir (Tablo 3).

5. TARTIŞMA

Günümüzde tedavide kullanılan nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların etki gücündeki yeterlilik, yan etki sıklığındaki fazlalık özellikle kronik hastalıklarda kullanımlarına ilişkin sınırlama getirmektedir. Pekçok farklı bileşiğin kullanımda olmasına rağmen hala etkili ve daha az toksik yeni bileşik arayışı sürmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmaların bir kısmı mevcut bileşiklerden yola çıkarak molekül yapılarında meydana getirilen değişikliklerle ilaç adayı olabilecek maddeler sentez etmek yönündedir.

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

Bu tez kapsamı içinde araştırdığımız dört test maddesine DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 numaralı kodlar verilmiştir. Test edilen türev maddelerin yapısal, fizikokimyasal ve diğer kimyasal özellikleri, Farmasötik Kimya Anabilim dalınca belirlenmiş ve bu bilgilerden, verilerden yararlanılarak farmakolojik tarama ve aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 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 referans madde olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada test edilen 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, kıvranma) testi tercih edilmiştir. Planlanan birden fazla aljezi modelinin (sıcak plak, tail flick v.b.) kullanılmasına rağmen sentezlenen madde miktarının azlığı ve önemli bir kısmının kimyasal analizler için kullanılmış olması, farmakolojik tarama testlerinin sınırlandırılmasını da zorunlu kılmıştır. Kıvranma testinde kimyasal aljezik olarak daha önce de laboratuvarlarımızda sıkça kullandığımız parabenzokinon (p-BK) kullanılmıştır. Laboratuvarımızda yapılan pekçok ağrı çalışmasında tespit edilen ve farede kıvranma ağrı modeline en iyi cevap veren Swiss soyu albino erkek fareler deney hayvanı olarak seçilmiştir. Her ne kadar aynı tür, soy ve cins deney hayvanı kullansak da bireysel farklılıkların çokça görülmesi nedeni ile tüm farelere çalışmaya almadan kuyruk sıkıştırma (kuyruğa damar pensi veya saç maşası takma) testi uygulamış ve ağrı eşiği çok yüksek olan ve hipoaljezik olan fareler çalışmaya dahil edilmemiştir.

Test edilen DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 bileşiklerinin suda çözülmemesi nedeni ile çözücü olarak DMSO kullanılmıştır. Bu nedenle DMSO'nun da kıvranma testinde etkisi incelenmiştir. DMSO'nun kıvranma sayıları üzerine hidrofilik maddeler için çözücü olarak kullanılan serum fizyolojiktan istatistiksel anlamlı bir fark

oluşturmadığı 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 sıkça referans madde olarak kullanılan ASA'nın gerek analjezik aktivitesi gerekse ülserojenik etkisi iyi bilinmektedir. ASA, kıvrınma modelinde, 100mg/kg olarak ve 0,05ml/10 g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve % 68.9 ± 10.1 antinosiseptif aktivite gösterdiği hesaplanmıştır.

ASA'nın yanısıra, analjezik aktivite yönünden taranan türev maddelerin tümü 100mg/kg olarak ve 0,05ml/10 g fare vücut ağırlığına göre subkütan uygulanmış ve sırasıyla, kontrole göre, DNY 214 % 10.9 ± 12.8 ve DNY 218 % 33.5 ± 7.8 istatistiksel anlamlı olmayan ($p>0.01$) antinosiseptif aktivite göstermiştir. Bunun yanında DNY 230 % 73.4 ± 6.0 ve DNY 232 % 46.8 ± 4.7 istatistiksel anlamlı ($p<0.01-0.0001$) antinosiseptif aktivite göstermiştir. Kıvrınma test modelinde, antinosiseptif aktivite yönünden taranan pirazol-3-karboksilik asit ester türevi DNY 230 ve DNY 232 kod adlarını taşıyan bileşiklerin, grubun majör referans bileşiklerinden birisi olan asetil salisilik asitle karşılaştırılabilir potent etkilere sahip oldukları bu çalışma ile gösterilmiş ve olurlanmış bulunmaktadır. Bunlara ilişkin veriler de, Şekil 8 ve Tablo 3 de özetlenmektedir.

Ağrı tedavisinde aspirin (ASA) ve parasetamol en yaygın olarak kullanılan analjezik ilaçlardandır. 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 azaltır¹¹⁷. Zayıf organik asid yapısında olan aspirin mide suyunun asid ortamında daha noniyonizedir 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 hızlandırır ve mide suyu pH'sinde 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.

Tez çalışması kapsamında incelenen türev bileşiklerle ilişkilendirildiğinde, maddelerin kıvrınma modelinde ASA gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları ve ASA'ya benzer etki gösteren DNY 230 ve DNY 232'nin ASA ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Bu çalışmada antiniflamatuvar aktivite tarama modeli olarak pençe ödemi modeli kullanılmıştır¹²⁰. Pençe ödemi modelinde inflamatuvar ajan olarak karagenin (carrageenan: CG) kullanılmıştır. Yapılan ön

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

Fare pençe ödemi modelinde yapılan antiinflamatuvar aktivite taramalarında, DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 kod numarasını taşıyan pirazol-3-karboksilik asit ester türevleri (100mg/kg), çözücüsü olan DMSO ile birlikte indometazine (10mg/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 karagenin enjeksiyonundan sonra oluşturdukları antiinflamatuvar aktivite 0, 90, 180, 270 ve 360. dakikalar bakımından izlenmiş ve faz II % antiinflamatuvar aktivite değerlendirmeleri 270. dakikada yapılmıştır.

İnflamasyonun II. fazında (270. dakika) referans madde indometazin ve test edilen pirazol-3-karboksilik asit türevleri ester türevlerinin oluşturdukları etkiler (ödem kalınlığı $\times 10^{-2}$ mm ve % antiinflamatuvar aktivite) sırasıyla şöyledir; indometazin için; 40.83 ± 3.27 (%45.56), DNY 214 için; 37.50 ± 4.23 (%50.00), DNY 218 için; 53.33 ± 5.27 (%28.89), DNY 230 için; 34.44 ± 6.09 (%54.07) ve DNY 232 için; 37.22 ± 5.47 (%50.37). Bu sonuçlara ilişkin veriler Şekil 13 ve Tablo 3’de özetlenmektedir.

Test edilen bileşiklerin antiinflamatuvar aktivite profillerine bakıldığında indometazin gibi, 100 mg/kg doza denk düşen hacimlerde uygulanan türev maddelerin tümü, fare pençe ödemi, kontrol maddesi olan DMSO ya göre istatistiksel anlamlı ($p<0.001-0.0001$) olarak inhibe etmiştir. DNY 218 maddesinin antiinflamatuvar aktivitesi diğerlerine göre daha az görünmesine rağmen Şekil 9, 10, 11 ve 12’de rahatça gözlemlendiği gibi tüm test maddelerinin relatif etkinlik olarak indometazine benzer potense sahip oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 13).

İndometazin ve incelenen tüm türev maddelerin gerek akut toksisite ve mortalite ve gerekse ülserojenik etki bakımından incelenmesinde, 100 mg/kg dozlarda herhangi bir mortalite oluşturmadığı ve kullanılan maddelerden sadece ASA’nın ciddi ülserojenik aktivite gösterdiği, test maddelerinin ise indometazin benzeri bir ülserojeniteye sahip oldukları gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3’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 maddeler subkütan 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 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 kod numarasını taşıyan pirazol-3-karboksilik asit

ester 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 230, DNY 232'dir.

Bu tez çalışmasında analjezik ve antiinflamatuvar aktivite taraması yapılan bileşikler, multidisipliner bir çalışmanın bir parçasıdır. Bu bakımdan sentez edilen maddelerin miktar kısıtı, farmakodinamik tarama testlerinin de en önemli sınırlayıcı faktörü olmuştur. Bunun yanı sıra tarama testlerinin büyük miktar da deney hayvanı sayısına gereksinim göstermektedir. Bu bağlamda hayvan deneyi ile yapılan tarama testlerinden önce test edilecek maddelerin invitro olarak enzim aktiviteleri IC_{50} düzeyleri, stabilite testleri gibi mümkün olan tüm yönlerden incelenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada da kısıtlı olmasına karşın invitro testler yapılmıştır.

Sonuç olarak; yapılan bu çalışmada elde edilen verilerin bir başlangıç verisi olarak kabulü ve buna göre selektivite gösteren bileşiklerin farmakodinamik profillerine ilişkin yeni ve kapsamlı ortak çalışmaların sürdürülmesi gerekli görülmektedir. Bütün kısıtlı olanak ve koşullara karşın incelenen bileşiklerin içinden ilaç adayı bileşiklere dair önemli ön bulguların ortaya çıkarılmış olması oldukça önemlidir ve literatüre önemli katkı sağlayacağı anlaşılmaktadır.

6. SONUÇ

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nda klasik NSAİİ'lerden yola çıkarak pirazol-3-karboksilik asit ana molekülünün ester türevleri sentezlenmiş ve Farmakoloji Anabilimdalı'nda DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 olarak kod numarası verilen bu maddelerin analjezik, antiinflamatuvar aktivite taramaları yapılmıştır.

NSAİİ olarak kullanılan bir ana bileşiğin kullanıldığı bu çalışmada elde edilen ester türevlerinin daha etkili ve daha az toksik olabileceği düşüncesi ile invitro taramaları tamamlanan test maddeleri parabenzokinon ile oluşturulan kimyasal ağrı modelinde analjezik aktivite taramaları yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında incelenen bazı türev bileşiklerle elde edilen veriye göre özellikle iki ester türevinin kıvranma modelinde ASA gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. ASA'ya benzer etki gösteren DNY 230 ve DNY 232'nin ASA ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Aynı zamanda, karagenin ile oluşturulan fare pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar aktivite taramaları gerçekleştirilen DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 kodlu maddelerin tamamının önemli antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları ve birer ilaç adayı olabilecekleri gözlenmiştir.

7. ÖZET

Ağrı gelişen dünyada en geniş sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bu problem yetişkin popülasyonun yaklaşık %20'sini etkilerken, etkilenenlerin pekçoğu kadınlar ve yaşlılardır². Bilim ve bilimsel yöntemlerin gelişmesine paralel olarak ağrı mekanizmalarının anlaşılması, araştırmacıların en büyük ilgi alanlarından biri olmaya devam etmektedir¹.

Opioidlerin yan etkilerinden dolayı şiddetli olmayan akut ve kronik nosiseptif ağrılarda non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) daha fazla tercih edilmektedirler^{5,9,10}. Son yıllarda NSAİİ'lerin ester ve amit türevleri üzerinde çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Üzerinde çalışılan moleküllerin daha fazla antiinflamatuvar 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 ester türevleri sentezlenmiş ve Farmakoloji Anabilimdalı'nda DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 olarak kod numarası verilen bu maddelerin analjezik, antiinflamatuvar aktivite taramaları yapılmıştır.

Tez çalışması kapsamında incelenen bileşiklerle elde edilen veriye göre özellikle iki ester türevinin kıvrınma modelinde ASA gibi potent antinosiseptif aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir. ASA'ya benzer etki

gösteren DNY 230 ve DNY 232'nin ASA ile relatif eşdeğer potenslere sahip oldukları anlaşılmaktadır.

Aynı zamanda, karagenin ile oluşturulan fare pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar aktivite taramaları gerçekleştirilen DNY 214, DNY 218, DNY 230 ve DNY 232 kodlu maddelerin tamamının önemli antiinflamatuvar aktiviteye sahip oldukları ve birer ilaç adayı olabilecekleri gözlenmiştir.

8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

In the developing world, pain continues to be one of the largest health problems. This problem affects approximately 20% of adult population, many of them are women and elderly people. Understanding of pain mechanisms in parallel with the development of science and scientific methods, continue to be one of the biggest areas of researcher's interest.

Because of opioid side effects, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are more preferred at non-severe acute and chronic nociceptive pain. In recent years lots of studies performed about ester and amide derivatives of NSAIDs. The studied molecules are expected to have more anti-inflammatory activity and less gastrointestinal side effects.

In this study we synthesized the ester derivatives of pyrazole-3-carboxylic acid molecule in Department of Pharmaceutical Chemistry of Gazi University Faculty of Pharmacy, and the analgesic and antiinflammatory effects of the test substances called DNY 214, DNY 218, DNY 230, DNY 232, are examined in Department of Pharmacology.

According to data obtained from compounds that examined within the scope of this study, two ester derivative have potent antinociceptive activity like ASA at writhing models. That shows substances called DNY 230 and DNY 232 which have same effects with ASA, have equivalent relative potency with ASA.

At the same time mouse paw edema model which is performed by carragenin, shows us that all of DNY 214, DNY 218, DNY 230 and DNY 232 coded substances have important antiinflammatory activity and these substances can be probable drug candidates.

9. KAYNAKLAR

1. Erdine S. Ağrı mekanizmaları. Erdine S (ed). Ağrı. 1. Baskı. İstanbul; Alemdar Ofset: 2000; 20.
2. Tracey I., and Mantyh PW. The cerebral signature for pain perception and its modulation. Neuron 55, August 2, 2007; 55 : 377-390.
3. Bob P. Pain, dissociation and subliminal self-representations. Consciousness and Cognition 2008; 17 : 355-369.
4. Loeser JD., Melzack R. Pain: an overview. Lancet 99; 353 : 1607-1609.
5. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 9.baskı. Ankara: feryal matbacılık: 2000; 2 : 981-990.
6. Dere F. MSS'nin temel yapısal ve fonksiyonel organizasyonu. Nöroanatomi, Fonksiyonel nöroloji atlası ve ders kitabı. 3. Baskı. Adana kitapevi: 1999; 3 : 191-193.
7. Price DD., Hirsh A., and Robinson ME.. Psychological Modulation of Pain. Overview of pain. 2008; 976-998.
8. Ely T. Conotoxins reveal significant psychopharmacological effectiveness: the future of pain management. Journal of Psychology and Behavioral Sciences. 2003; 17 : 18-33.

9. Tsagareli MG. Study of non-opioid induced tolerance in rats. 5th Congress of the European Federation of IASP Chapters Abstract Book, İstanbul: 2006: p.86
10. Rodriguez-Vazquez E., Ramirez K., Avila C., Escobar W., Vanegas H., Tortorici V. Repeated morphine administration induced analgesic tolerance to morphine and cross tolerance to systemic dipyrone (metamizol). 5th Congress of the European Federation of IASP Chapters Abstract Book, İstanbul: 2006: p.86
11. James E., Heavner and Dale M. Cooper. Anesthesia and analgesia in laboratory animals In: Pharmacology of Analgesics. Chapter 4. 2nd edition. 2008: 97-112
12. Rainville P. Brain mechanisms of pain affect and pain modulation. Current Opinion in Neurobiology. 2002; 12 : 195-204.
13. Dworkin RH., O'Connor AB., Backonja M., Farrar JT. Pharmacologic management of neuropathic pain: Evidence-based recommendations. Pain 2007; 132 : 237–251.
14. Le Bars D., Gozariu M., and Cadden SW. Animal Models of Nociception. Pharmacological Rev. 2001; 53 : 597-652.
15. Garrya EM., Jonesb E., Fleetwood-Walkera SM.. Nociception in vertebrates: key receptors participating in spinal mechanisms of chronic pain in animals. Brain Research Reviews 2004; 46 : 216-224.
16. Dökmeci İ. Opioid Analjezikler. Farmakoloji-ilaçlar ve etkileri. 1. Basım. İstanbul: Alfa; 2007; 1 : 553-78.

17. Erdine S. Ağrı mekanizmaları (internette) http://www.algoloji.org.tr/etkinlik_kitap.asp?unit=4. (Erişim tarihi: 07.06.2010).
18. Ballantyne JC. The Massachusetts General Hospital Handbook of Pain Management. Lippincott Williams & Wilkins. 3. Baskı. 2006.
19. Kayhan Z. Klinik Anestezi. 2. Baskı İstanbul: Logos Yayıncılık, 1997; 2 : 759-787.
20. Kaçmaz M. Kayseri. Parasetamolün oluşturduğu antinosisepsiyon üzerine nalokson ve flumazelinin etkileri. Yüksek Lisans. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
21. Hawthorn J. and Redmond K. Pain Causes and Management. Chapter 1. 1998. 1-29.
22. Şenyer Açıkgöz N. p-benzokinon ile indüklenen nosisepsiyonda nebivolol'ün kronobiyojik etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007.
23. Morgan GE., Mikhail MG. Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, 2 ed. New Jersey: Prentice- Hall International, Inc., 1996: 274-316.
24. Dray A. and Perkins MN. Bradykinin and inflammatory pain, trends. Pharmacol Sci. 1993; 16 : 99-104.
25. Childs A., Evans R., Watkins J. The pharmacological selectivity of three NMDA antagonists. European Journal Pharmacology 1988; 145 : 81-6.

26. Salt T., Hilkl R. Pharmacological differentiation between responses of rat medullary dorsal horn neurons to noxious mechanical and noxious thermal cutaneous stimulation. Brain Res. 1983; 262 : 167-71.
27. Erdine S. Ağrı. İstanbul: Savaş Ciltevi; 2000; 20-9.
28. Aanonsen L., Wilcox GL. Nociceptive action of excitatory amino acids in the mouse: effects of spinally administered opioids, phencyclidine and sigma agonists. J. Pharmacol. Exp Ther. 1987; 243 : 9-19.
29. Raigorodsky G., Urca G. Intrathecal N-methyl-D-aspartate (NMDA) activates both nociceptive and antinociceptive pathways. Brain Res. 1987; 422 : 158-62.
30. Raj PP. Ağrı taksonomisi. Erdine S (ed). Ağrı, Birinci baskı, İstanbul; Alemdar Ofset, 2000: 12-20.
31. Erdine S. Ağrının Tanımı, Ed; Erdine S. Ağrı Sendromları ve Tedavisi, 2. Baskı, 2003: 1-6.
32. Dahl JB., Moiniche S. Pre-emptive analgesia. British Medical Bulletin. 2004; 71 : 13-27.
33. Aydın ON. Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2002; 3(2):37-48.
34. Kocaman G. Ağrı-hemşirelik yaklaşımları. 1. Baskı, SarayMedikal Yayıncılık, İzmir: 1994.

35. Kayaalp SO. Tıbbi Farmakoloji. 10. baskı. Feryal matbaacılık, Ankara: 2002: 954-957.
36. Rowlingson JC., Murphy TM. Chronic pain. In: Miller RD (ed) Anesthesia (5th ed) Churchill Livigstone, Philadelphia 2000. pp. 323-365.
37. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği (TARD), Anestezi Uygulama Kılavuzları, Postoperatif Ağrı Tedavisi. Mart 2006: 3-6.
38. Serpell MG. Gabapentin in neuropathic pain syndromes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Pain 2002; 99 : 557-66.
39. Zeilhofer HU. Prostanoids in nociception and pain. Biochemical pharmacology. 2007; 73 : 165-174.
40. Teng J., Mekhail N. Neuropathic pain: mechanisms and treatment options. Pain Practice 2003; 3 : 8-21.
41. Berker E. Nöropatik ağrı etyopatogenezi. J Int Med Sci 2005; 1 : 37-40.
42. Zimmermann M. Pathobiology of neuropathic pain. Eur J Pharmacol 2001; 429 : 23-37.
43. Baron R. Peripheral neuropathic pain: from mechanisms to symptoms. Clin J Pain 2000; 16 : 12-20.

44. Abacıoğlu N. Chronobiology of pain in experimental designs. In: Mediterranean Society for Chronobiology First Graduate Course Abstracts on Chronobiology. Antalya, Türkiye. 2001.
45. McCleskey EW., Gold MS. Ion channels of nociception. *Annu Rev Physiol.* 1999; 61 : 835-56.
46. Besson JM., Chaouch A. Peripheral and spinal mechanism of nociception. *Physiol Rev.* 1998; 767 : 67-186.
47. Mc Mahon S., Koltzenburg M. (eds) Wall and Melzack's Textbook of Pain, 5th edition, Churchill Livingstone, Edinburgh, 2005.
48. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol.* 2002; 66(6) : 355-474.
49. Kidd BL., Urban LA. Mechanisms of inflammatory pain, *British Journal of Anaesthesia*, 2001;87(1) : 3-11.
50. Bonica JJ. The Management of Pain, 2 ed. Philadelphia: Lea&Febriger: 1990.
51. Woolf CJ., Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science.* 2000; 288 : 1765-1769.
52. Shu X., Mendell LM. Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin. *Neurosci Lett.* 1999; 274 : 159-62.
53. Susanna Fürst. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. *Brain Research Bulletin.* 1999; 48 : 129-141.

54. Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi ve nörofizyolojisi. Ln; İ Yegül (ed). Ağrı ve Tedavisi. Yapım matbacılık; İzmir: 1996 : 75-84.
55. Alçın E. Nosisepsiyonda pürinerjik p2y12 reseptörlerinin rolü üzerine deneysel çalışmalar. Yüksek Lisans. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2009
56. Ertekin C. Türkoğlu M. Ağrının nöroanatomisi ve nörofizyolojisi, ağrının tanımlanması ve ölçümü. Yegül İ. Ağrı ve Tedavisi. Yapım matbacılık; İzmir 1996: 1-28.
57. Heavner JE. Pain pathways: Anatomy and Physiology. In:Raj PP (ed). Practical Management of Pain, 3 ed. St Louis: Mosby Inc. 2000 : 107-45.
58. Guyton CA., Hall EJ. Textbook of Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji. Çavusoglu H. (çeviri editörü). 10 baskı. Nobel Tıp ve Yüce Yayınları, 2001: 552-559.
59. Dost T., Dökmeci D., Akpolat M., Karadağ ÇH., Ulugöl A. Farelerde morfinin oluşturduğu analjezik etkide santral histaminerjik sistemin rolü. Trakya Üniv. Tıp Fak. Dergisi 2000; 17 : 141-7.
60. Özcan İ. Ağrı. Baş boyun ve orofasiyal ağrılar. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri; 2000; 37.
61. Dickenson AH. NMDA receptor antagonists as analgesics. In: Fields HL, Liebeskind (eds), Pharmacological approaches to the treatment of pain. Seattle: IASPPress, 1994; 173-87.

62. Heavner JE, Willis WD. Pain pathways: Anatomy and physiology. In: Raj PP (ed). Practical Management of Pain, 3 ed. St Louis: Mosby Inc, 2000;107-45.
63. Omote K., Kawamata T., Kawamata M., Namiki A. Formalin induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hind paw. Brain Res. 1998; 787(1) : 161-164.
64. Dua J., Koltzenburgb M., Carlton SM. Glutamate-induced excitation and sensitization of nociceptors in rat glabrous skin. Pain 2001; 89 : 187-198.
65. Price DD., Mao J., Mayer DJ. Central neural mechanisms of normal and abnormal pain states. In: Fields HL, Liebeskind (eds). Pharmacological approaches to the Treatment of Pain. Seattle: IASP Press, 1994;61-84.
66. Abacıoğlu N. Aljezi, inflamasyon, pirezis ve nonsteroidal analjezik antiinflamatuvar ilçalar. In: Bökesoy TA., Çakıcı İ., Melli M., editörs. Farmakoloji Ders Kitabı. Ankara: Gazi Kitabevi; 2000: 473-7.
67. Shrivastav M., and Musley S. Spinal Cord Stimulation for Complex Regional Pain Syndrome. Engineering in Medicine and Biology Society. 2009: 2033-2036
68. Önal A. Algoloji. Elazığ: Nobel Kitabevi. 2004: 1-20.
69. Bagley CA., Ohara S., Lawson HC. and Lenz FA. Psychophysics of CNS Pain-Related Activity: Binary and Analog Channels and Memory Encoding. Neuroscientist 2006; 12:29.

70. Heavner JE. Ağrı mekanizması. Klinik pratik için bilimsel temeller. In:Erdine S., Özyalçın SN., Raj PP., Heavner JE. Rejyonal Anestezi (1.baskı) Nobel tıp kitabevi, İstanbul 2005;13-21.
71. Morgan GE., Mikhail MG. Pain Management. In: Clinical Anesthesiology, 2 ed. New Jersey: Prentice-Hall International, Inc., 1996: 274-316.
72. Sezer G. Sıçan formalin testinde venlafaksinın lokal periferik antinosiseptik etkisi. Doktora. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2007.
73. Rohkamm R. Color Atlas of Neurology. Stuttgart. Georg Thieme Verlag. 2004: 118.
74. Nicholas D. Moorea. In search of an ideal analgesic for common acute pain. Acute Pain. 2009; 11 : 129-137.
75. Ibuprofen-like Activity in Extra-virgin Olive Oil. Nature 2005;437 sepmber.
76. Berde C., and Sundel R. International Association for the Study of Pain, COX-2 Inhibitors: A Status Report. 1998.
77. T.C. Sağlık Bakanlığı Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerinde Çalışan Hekimler İçin Yaşlı Sağlığı Tanı ve Tedavi Rehberi, 2010; 781: 401-412.
78. Antman EM., Bennett JS., Daugherty A., Furberg C., Harold R. and Taubert KA.. Use of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. American Heart Association. 2007; 115 : 1634-1642.

79. Dray A. Pharmacological Modulation of Pain. Astra Zenca Research and Development. Montreal PQ; Canada: 2008; 795-811.
80. Reves JG., Glass PS. Nonbarbitürat Intravenous anesthetics In: Miller RD. (ed.) Anesthesia (5th ed.) Churchill Livigstone, Philadelphia 2000; 228-272.
81. Gard G., Richard P. Human Pharmacology. New York; USA. CRC PresLUC; 2000; 40.
82. Crawley JN. Sensory abilities. In What's wrong with my mouse? Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice. New York, Wiley-Liss, 2000; 65-83.
83. Kesim M., Duman E., Kadioglu M., Yariş E. Hayvanlarda deneysel akut ağrı modelleri. Ağrı 2002; 14(3) : 16-21.
84. Langford DJ. and Mogil JS. Pain Testing in the Laboratory Mouse. 2008: 549-560.
85. D'Amour FE., Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. J. Pharmacol. Exp Ther. 1941;72: 74-79.
86. Tjolsen A., Lund A., Berge OG., Hole K. An improved method for tail flick testing with adjustment for tail skin temperature. J. Neurosci. Meth. 1989; 33:259-264.
87. Ben-Bassat J., Peretz E., Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. Arch. Int. Pharmacodyn Ther. 1959; 122 : 434-447.

88. Anonoim:<http://www.ebinstruments.com/ebinstruments/english/default/item.php?mode=photo&id=576>. (internetten). (Erişim tarihi: 05.05.2011).
89. Eddy NB, Leimbach D. Synthetic analgesics. II. Diethienylbutenyl- and dithienylbuthylamines. J Pharmacol Exp Ther 1953;107:385-393.
90. Haffner F. Experimentelle prufung schmerzstellender mittel. Deutsch Me Worchen-schr 1929;55:731-733.
91. Hunskaar S, Berge OG, Hole K. Antinociceptive effects of orpenadrine citrate in mice. Eur JPharmacol 1985;111:221-226.
92. Anonim:http://www.ebinstruments.com/ebinstruments/english/default/item_id=563_ColdHotPlateTest.php. (internetten). (Erişim tarihi: 05.05.2011).
93. Randall LO., Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch Int Pharmacodyn 1957; 111 : 409-419.
94. Gaumond I., Arsenault P., Marchand S. The role of sex hormones on formalin induced nociceptive responses. Brain Res. 2002; 958 : 139-145.
95. Dubuisson D., Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of mor phine, meperidine, and brain stem stimulation in ratsand cats. Pain 1977; 4 : 161-174.
96. Tjolsen A., Berge OG., Hunskaar S., Rosland JH., Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. Pain 1992; 51(1) : 5-17.

97. Uyar FA. Doğal İmmun Sistem: Erken İnflamatuvar Yanıtın Kontrolü. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı. (internetten). Url: <http://www.scribd.com/doc/20572766/Do%C4%9Fal-%C4%B0mmun-Sistem-Erken-%C4%B0nflamatuvar-Yan%C4%B1t%C4%B1n-Kontrolu-Www-Stetuskop-com-5>. (Erişim: 07.04.2011).
98. Kuralay F., Çavdar Z. İnflamatuvar Medyatörlere Toplu Bir Bakış. Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı. İzmir: Genel Tıp Dergisi. 2006; 16(3) : 143-152.
99. Altındaş M. Kronik Yara ve Tedavisi ve Bakımında Tıbbi Sorunlar. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Yara Bakımı ve Tedavisi Sempozyum Dizisi. 67: 237-247. (internetten) URL: <http://www.steteskop.net/News-file-article-sid-1670.html>. (Erişim: 08.04.2011).
100. Odell RH., and Sorgnard RE. Anti-inflammatory Effects of Electronic Signal Treatment. Pain Physician. 2008; 11 : 891-907.
101. Vanegas H., Hans-Georg Schaible. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. Progress in Neurobiology. 2001; 64 : 327–363.
102. Kayaalp SO. Non-steroidal Antiinflatuvar İlaçlar, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 10. Baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara, 2002: 960- 986.
103. Mizmura K. Peripheral mechanisms of hyperalgesia sensitization of nociceptors, Nagoya J. Med. Sci., 1997; 60 : 69-87.

104. Dray A. Inflammatory mediators of pain, British Journal of Anaesthesia, 1995; 75 : 125-131.
105. Vanegas H. To the descending pain-control system in rats, inflammation-induced primary and secondary hyperalgesia are two different things. Neuroscience Letters, 2004; 361 : 225-228.
106. Meggs WJ., and Svec C. The Inflammation Cure. 2003. (internetten). URL:
http://books.google.com/books?id=8M2W_Nx89nYC&printsec=frontcover&hl=tr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. (Erişim: 16.03.2011).
107. Schouenborg J., Sjolund B. First-order nociceptivesynapses in rat are blocked by an amino acid antagonist. Brain Res. 1986; 376 : 394-8.
108. Sorkin L., McAdoo DJ. Amino acids and serotonin are released into the lumbar spinal cord of the anesthetized cat following intradermal capsaicin injections. Brain Res. 1993; 607 : 89-98.
109. Kayaalp SO.. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 9. Baskı. 2. Cilt, Ankara: Feryal matbacılık: 2000; 2 : 1467-1540.
110. Levine JD., Reichling DB. Peripheral mechanisms of inflammatory pain. In: Wall PD., Melzack R., eds. Textbook of Pain. 4th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999: 59-84.
111. McCleskey EW., Gold MS. Ion channels of nociception. Annu Rev Physiol. 1999; 61 : 835-856.

112. Waldmann R. Proton-gated cation channels-neuronal acid sensors in the central and peripheral nervous system. *Adv Exp Med Biol.* 2001; 502 : 293-304.
113. Walker K., Perkins M., Dray A. Kinins and kinin receptors in the nervous system. *Neurochem Int.* 1995; 26 : 1-16.
114. Warner TD., Mitchell JA. Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 : 13371-3
- .
115. Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of pain and inflammation. *J Orofac Pain.* 2001; 15 : 1-5.
116. Majno G., And Joris I., *Cells , Tissues and Disease . Principles of General Pathology* Newyork Oxford University Press. 2004.
117. Dökmen İ. *Farmakoloji, İlaçlar ve Etkileri. Eikozanoidler ve steroid olmayan analjezikler* 1. Baskı. Melissa matbaacılık. Mart 2007: 579-604
118. Leone S., Ottani A., Bertolini A. Division of Clinical Pharmacology, School of Medicine, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy. Dual acting antiinflammatory drugs. 2007; 7(3) : 265-75.
119. Okun R., Liddon SC., Lasagnal L. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1963; 139 : 107-114

120. Uludağ MO., Çalışkan Ergün B., Alkan A., Ercan N., Özkan Y., E. Banoğlu. Stable ester and amide conjugates of some NSAIDs as analgesic and antiinflammatory compounds with improved biological activity. Turk J. Chem. 2011; 35 : 1-13
121. Uludağ MO., Tunçtan B., Altuğ S., Zengil H., and Abacioğlu N. Twenty-four-hour variation of L-arginine/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway demonstrated by the Mouse visceral pain model. 2009; 24(3) : 413-424
122. Kasahara Y., et al., Effect of methanol extract from flower petals of *Tagetes patula* L. on acute and chronic inflammation modelPhytother. Res. 2002; 16 : 217-222.

10. EKLER

10.1. Etik Kurul Onayı

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

23/02/2010

S. AYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/ **53-3044**
KONU:

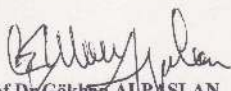
Sayın
Doç.Dr.Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

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 eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkı sağlayan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Sayın Mecit Orhan ULUDAĞ'a ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sayın Nurettin ABACIOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması süresince yardımlarını gördüğüm Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na, tez çalışma arkadaşlarım, Ecz. G. Sibel ARKUN, Ecz. Aslı ALKAN, H. Nilüfer ERCAN, Ecz. Khatere FATTAHPOUR, Ecz. Nur Banu UZUN'a ve beni her zaman destekleyen ve bugünlere gelmemde büyük payı bulunan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: İlker

Soyadı: EVREN

Doğum Yeri Ve Tarihi: Ankara, 02.07.1986

Eğitim Durumu:

Gazi Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji A.B.D. Yüksek Lisans	2008-2011
Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2004-2008
Konya Cumhuriyet Süper Lisesi	2000-2004
Antalya Kamile Çömlekçioğlu İlköğretim Okulu	1999-2000
Bilecik Edebalı İlköğretim Okulu	1995-1999
Ankara Keçiören Kalaba İlkokulu	1994-1995
Ordu Cumhuriyet İlk Okulu	1992-1994

Yabancı Dili: İngilizce