



**KERSETİN VE KERSETİN YÜKLÜ SİKLODEKSTRİN
FORMÜLASYONLARININ AKUT AĞRI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Özge ÖZCAN

Eskişehir 2020

**KERSETİN VE KERSETİN YÜKLÜ SİKLODEKSTRİN
FORMÜLASYONLARININ AKUT AĞRI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Özge ÖZCAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2020

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özge ÖZCAN' ın “Kersetin ve Kersetin Yüklü Siklodekstrin Formülasyonlarının Akut Ağrı Üzerindeki Etkilerinin Karşılaştırılması” başlıklı tezi 10/08/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Rana ARSLAN	
Üye	: Doç.Dr. Semra YİĞİTARSLAN	
Üye	: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN	

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Enstitü Müdürü

ÖZET

KERSETİN VE KERSETİN YÜKLÜ SİKLODEKSTRİN FORMÜLASYONLARININ AKUT AĞRI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Özge ÖZCAN

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Ağustos 2020

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Kersetin, doza bağlı antinösetif etkisi farklı çalışmalar ile gösterilmiş bir flavonoidir. Kersetinin suda az çözünürlüğü, kimyasal kararsızlığı ve düşük biyoyararlanımı, sahip olduğu pek çok biyolojik etkinin sınırlandırılmasına neden olmaktadır. Kersetinin etki profilinin kısıtlanmasını önlemek için farklı bir taşıyıcı sistem ile çözünürlüğünün ve kararlılığının artırılması hedeflenmektedir. Bu çalışmanın amacı, kersetinin düşük dozlardaki (3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 20 mg/kg) santral analjezik etkisinin zamana bağlı sıcak plaka ve kuyruk daldırma gibi akut analjezi testleri ile gösterilmesidir. Çalışmada aynı zamanda kersetin yüklü siklodekstrin formülasyonu oluşturularak düşük dozlarda gözlenen analjezik etki ve bu etkideki değişimler saf kersetin dozları ile karşılaştırılmıştır. Araştırma sonuçlarımıza göre, β -siklodekstrin kompleksinin, kersetinin *in vitro* koşullarda sudaki çözünürlüğünü arttırdığı gösterilmiştir. Siklodekstrin-keretin formülasyonu uygulanan tüm dozlarda kontrole göre anlamlı analjezik etki göstermiştir. Saf kersetin 3 mg/kg dozda her iki analjezik testte de anlamlı etki göstermezken siklodekstrin-keretin kompleksi anlamlı etki göstermiştir. Siklodekstrin-keretin kompleksi saf kersetine göre bize daha kolay bir çözünürlük, analjezik etkide artış ve uygulama kolaylığı sağlamıştır.

Anahtar Sözcükler: Kersetin, Analjezik etki, Kararlılık, Siklodekstrin, Çözünürlük

ABSTRACT

COMPARISON OF THE EFFECTS OF QUERCETIN AND QUERCETIN ON THE ACUTE PAIN OF LOADED CYCLODEXTRIN FORMULATIONS

Özge ÖZCAN

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2020

Supervisor: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Quercetin is a flavonoid whose dose-dependent antinociceptive effect has been demonstrated by different studies. The low water solubility of quercetin, chemical instability and low bioavailability is caused to the limitation of many biological effects. It is aimed to increase bioavailability with a different carrier system to prevent the restriction of the effect profile of quercetin. The aim of this study is to demonstrate the central analgesic effect of quercetin at low doses (3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 20 mg/kg) with time-dependent acute analgesia tests such as a hot plate and tail immersion tests. In the study, at the same time, quercetin loaded cyclodextrin formulation was created and the analgesic effect observed at low doses and the changes in this effect were compared with pure quercetin doses. According to our research results, it has been shown that the β -cyclodextrin complex increases the solubility in water of quercetin in vitro conditions. The cyclodextrin-quercetin formulation showed a significant analgesic effect compared to control at all applied doses. While pure quercetin did not show a significant effect in both analgesic tests at a dose of 3 mg/kg, the cyclodextrin-quercetin complex showed a significant effect. The cyclodextrin-quercetin complex provided us an easier solubility, an increase in analgesic effect, and ease of application compared to pure quercetin.

Keywords: Quercetin, Pain treatment, Stability, Cyclodextrin, Solubility

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında değerli öneri ve yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Rana ARSLAN'a, Bölümümüz Öğretim Üyelerine, araştırmamın tüm aşamalarında desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca emeği geçmiş tüm teknik ve idari personele yardımları ve katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca, yüksek lisans çalışmalarımı sürdürebilmemde büyük bir özveri ile beni destekleyen aileme de teşekkürü borç bilirim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	iii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
1.1. Ağrı.....	4
1.1.1. Ağrı patofizyolojisi.....	5
1.1.2. Nosisseptörler ve nosisepsiyon	5
1.1.3. Ağrı mekanizmaları	7
1.1.3.1. <i>Periferik mekanizmalar</i>	7
1.1.3.2. <i>Merkezi mekanizmalar</i>	9
1.1.4. Ağrı yolakları	13
1.1.4.1. <i>Nosisseptif çıkıcı yolaklar</i>	13
1.1.4.1.1. <i>Spinotalamik yol</i>	13
1.1.4.1.3. <i>Spinomezensefalik yol</i>	14
1.1.4.1.4. <i>Dorsal kolon yolu ve spinoservikal yol</i>	14
1.1.4.2. <i>Antinosiseptif inisi yolaklar</i>	15
1.1.5. Ağrı sınıflandırılması	16
1.1.5.4. <i>Ağrının etiyolojik nedenlere göre sınıflandırılması</i>	18
1.1.5.5. <i>Rejyonal (bölgesel) ağrı sınıflaması</i>	18
1.1.6. Akut ağrı	18
1.1.7. Ağrı tedavisi	19
1.1.7.1. <i>Farmakolojik tedavi</i>	19
1.1.7.1.2. <i>Opioid ajanlar</i>	22

1.1.7.1.3. Yardımcı analjezikler.....	23
1.1.7.2. Farmakolojik olmayan tedavi	24
1.1.8. Nosiseptif ağrı modelleri	24
1.1.8.1. Elektriksel uyaran testleri.....	25
1.1.8.2. Termal uyaran testleri	25
1.1.8.3. Mekanik uyarının kullanıldığı testler	26
1.1.8.3.1. Pençe çekme testi (paw withdrawal/ paw pressure test)	26
1.1.8.3.2. Kuyruk sıkıştırma testi (Tail pinch/Tail clip test).....	27
1.1.8.4. Kimyasal uyarının kullanıldığı testler.....	27
1.1.8.4.1. Karın germe/kıvrınma (Writhing) testi	27
1.1.8.4.2. Formalin testi.....	27
1.1.9. Flavonoidler	28
1.1.9.1. Kersetin	29
1.1.9.1.1. Kersetinin kimyasal özellikleri.....	30
1.1.9.1.2. Kersetinin emilimi, metabolizması ve biyoyararlanımı	31
1.1.9.1.3. Kersetinin toksitesi.....	34
1.1.9.2. Kersetin için taşıma sistemleri.....	35
1.1.9.2.1. Siklodekstrin	38
1.9.2.1.1. Formülasyon hazırlama ve karakterizasyon.....	39
2. GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. Deney Hayvanları.....	40
2.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar	40
2.3. Yöntem.....	40
2.4. Termal Hiperaljezi	41
2.4.1. Sıcak plaka	41
2.4.2. Kuyruk daldırma testi	42
2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi	43
3. BULGULAR.....	45
3.1. Formülasyon Sonuçları	45
3.2. Sıcak Plaka (Hot-Plate) Testi	45
3.3. Kuyruk Daldırma (Tail immersion) Testi	47
4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	50

KAYNAKÇA.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	64



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Ağrının değerlendirilmesi.....	5
Tablo 1.2. Nöroseptif iletide görevli algenik maddeler.....	7
Tablo 1.3. IASP eksen sınıflandırması.....	16
Tablo 1.4. FDA onaylı basit ve nonopioid analjezikler.....	21
Tablo 1.5. Opioidlerin kullanımında dikkat edilmesi gereken durumlar.....	22
Tablo 1.6. Opioid analjeziklerin majör yan etkileri.....	23
Tablo 1.7. Kersetin biyoyararlanımını arttırmak için farklı dağıtım sistemlerinin avantajları ve dezavantajları.....	37
Tablo 2.1. Deney grupları.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Dorsal boynuz katmanları ve primer afferent lifler.....	10
Şekil 1.2. Periferik ve santral sensitizasyon.....	13
Şekil 1.3. Çıkan ağrı yolakları	15
Şekil 1.4. İnen ağrı yolakları.....	16
Şekil 1.5. DSÖ analjezik merdiveni	19
Şekil 1.6. Flavonoidlerin kimyasal yapısı.....	28
Şekil 1.7. Kersetinin kimyasal yapısı ve glikozitleri.....	31
Şekil 1.8. Farklı koloidal iletim sistemlerinin şematik gösterimi.....	36
Şekil 3.1. Kersetin sıcak plaka testi	45
Şekil 3.2. Siklodekstrin kersetin formülasyonu sıcak plaka testi.....	46
Şekil 3.3. Kersetin ve Siklodekstrin-Kersetin formülasyon uygulamasının sıcak plaka testinde karşılaştırılması.....	47
Şekil 3.4. Kersetin kuyruk daldırma testi.....	48
Şekil 3.5. Siklodekstrin kersetin formülasyonu kuyruk daldırma testi	48
Şekil 3.6. Kersetin ve Siklodekstrin-Kersetin formülasyon uygulamasının kuyruk daldırma testinde karşılaştırılması	49

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1. Deneylerde kullanılan sıcak plaka cihazı.....	42
Görsel 2.2. Deneylerde kullanılan su banyosu.....	43



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: 5 hidroksitriptamin-serotonin
ARAS	: Assendan retiküler aktive edici sistem
CCK	: Kolesistokinin
COX	: Siklooksijenaz
CGRP	: Calsitonine gene related peptide
CRPS	: Kompleks Rejyonel Ağrı Sendromu
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DOP	: Delta opioid peptit
ED	: Endorfin
EK	: Enkefalin
HP- β -CD	: Hidroksipropil-beta-siklodekstrin
IASP	: International Association for the Study of Pain (Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı)
GABA	: Gama-aminobutirik asit
GTP	: Guanozin Trifosfat
K	: Kersetin
KOP	: Kappa Opioid Peptit
LFH	: Laktaz Florhizin Hidrolaz
MOP	: Mü opioid peptit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
N	: Deney hayvan sayısı
NA	: Nöradrenalin
NMDA	: N-metil D- aspartat
NOP	: Nosiseptin opioid peptit
NSAİİ	: Non Steroidal Antiinflatuar İlaç
OATP	: Organik anyon taşıyan polipeptit
SBE- β -CD	: Sülfobütileter- β -siklodekstrin

SGT : Siklodekstrin glukano transferaz
S+K : Siklodekstrin+Kersetin
VPL : Ventral posterolateral
WDR : Wide Dynamic Range



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı, pek çok farklı bileşeni ve dolayısıyla da değişkeni olan, insanoğlunun geçmişten günümüze en karmaşık denklemi ve evrensel deneyimidir. İnsanoğlunun ağrı ile tanışması varoluşu ile kesişmektedir. Ağrı sözcüğü Latince cezalandırmak anlamındaki ‘poenza’ kelimesinden köken almaktadır. Ağrının, kendiliğinden ya da travmalara bağlı ortaya çıktığının bilinmesiyle beraber Mısır ve pek çok uygarlığın eski mistik ve dini inanışlarında kişinin çektiği ağrının yanlışları nedeniyle yaşadığı bir cezalandırma olduğunun düşünülmesiyle de ifade edildiğine kaynaklarda yer verilmektedir. Budizm’in kurucusu Sidarta Gautoma dünyada tanınan ismiyle ise Buda yaşam ile ölüm arasındaki gerçeği arayış yolculuğunda doğum, hastalık, ayrılık, nefret ve pek çok kavram için ‘Her şey ağrıdır’ ifadesini kullanmaktadır. Buda’nın ağrı ile esas olarak anlatmak istediği acıdır ve milattan önce (MÖ) 400’lü yıllardan günümüze acı ve ağrı arasındaki yakın korelasyonu gözler önüne sermektedir (Erdine, 2012).

Modern tıbbın babası sayılan Hipokrat (MÖ 460-360) ağrıyı vücuttaki bir dengesizlik olarak tanımlarken, Plato (MÖ 427-347) ağrıyı ruhun armonisindeki bir bozukluk olarak ifade etmektedir. Orta çağ tıp bilimine katkıları ile büyük değer kazanmış İbn-i Sina ise ağrıyı ‘Bedene zararlı olanı hissetmek’ şeklinde tanımlamaktadır (Ökten, 2016).

Ağrı üzerine yapılan her bir tanım ağrı mekanizmasının ayrı bir noktasına ışık tutması açısından günümüze yol gösterici nitelik taşımaktadır. 1974 yılında Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı ağrı için ‘Belirli bir nedene bağlı olan ya da olmayan, kişilerin geçmişindeki tüm deneyimleri ile ilgili hoş olmayan bir duygudur’ tanımını kullanmıştır. Ağrı her ne kadar vücudun kendini koruması üzerine kurulu, öznel bir deneyimi ve alarm mekanizması olsa da ağrılı kişiler için bu histen rahatlayarak kurtulmak, ortak bir amaç oluşturmaktadır. Ağrı hissi ile başa çıkabilmek için ilgili bölgeyi güneşe dönmek, sıcak ve soğuk taş vb. nesneler kullanmak, çeşitli bitkilerden yararlanmak, vücut postürünün değiştirilmesi veya yürümek gibi yöntemlerin kullanılması Mezopotamya, Mısır, Çin, Hint, Yunan ve Roma uygarlıklarına kadar dayanmaktadır.

Eski Mısır uygarlıklarında diş ağrıları için soğğun kullanılması, hint uygarlığının kutsal kitabı Rigvera'da geçen analjezik etkili bitkisel ve hayvansal kökenli ürünlerin kullanılması, Çin uygarlığının felsefi öğretilerinde yer alan akupunktur, Mezopotamya dönemine ait bir kodekste karşımıza çıkan mandragora ve afyonun ağrı kesici, güzelavrat otunun uyku verici olarak kullanımı, Roma döneminde ordudaki askerlerin ağrılarını gidermek için kullanıldığı tarif edilen banotu, baldıran ve afyondan yapılan hapların ve daha pek çok uygulamanın modern tıbbın ağrı tedavisi ile ilgi inceleme alanlarını oluşturması ve geliştirmesi bakımından önemli olduğu düşünülmektedir (Khan vd., 2015).

Ağrının sadece basit bir bulgu olmaktan çok daha fazlası olduğunun anlaşılması ve hastalık olarak değerlendirilmesi ile günümüzde kapsamlı incelemeler yapılmaktadır. Ağrı mekanizmaları ve ağrı oluşumu ile ilgili prensipler belirgin şekilde ortaya konulabilmektedir. Ağrı nörofizyolojisi hakkında bilinenlerden yola çıkılarak günümüzde ağrı tedavisinde kullanılan yöntemler dört ana başlıkta toplanmaktadır. Bunlar, ağrıya neden olan hastalığın primer tedavisi, sistemik farmakolojik tedavi, girişimsel yöntemler, fizik tedavi ve psikoterapi gibi destek tedavilerdir. Ağrı tedavisinde en sık tercih edilen yöntem farmakolojik tedavidir. Farmakolojik tedavide analjezik ve ko-analjezik ilaç kombinasyonları hastaya ve ağrı mekanizmasına göre tercih edilmektedir (Yücel ve Çimen, 2005). Ağrı tedavisinde kullanılan ilaçları opioid özellik gösterip göstermemeleri bakımından iki kısımda incelemek mümkündür. Opioid olmayan analjezikler (asetaminofen ve Non Steroidal Antienflamatuar İlaçlar (NSAİİ'ler)); hafif ila orta şiddetteki ağrılarda tek başlarına analjezik olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında, şiddetli ağrı tedavilerinde kullanılan opioid dozunu ve yan etkilerini azaltarak da avantaj sağlamaktadır. Ancak birçok ağrı türünde yeterli etki oluşturamamaktadırlar. Belirli bir dozun üzerinde uzun süre kullanıldıklarında etkinliğin değişmemesine karşı yan etkilerin artmasına sebep olmaktadır. Trombosit agregasyonunu inhibe etmeleri, gastrointestinal, renal ve kardiyovasküler yan etkileri nedeniyle kısa süreli (maksimum bir hafta) kullanımları önerilmektedir (Hay ve Nesbitt, 2019). Opioidler (morfin, tramadol) ise genellikle akut ağrı ve kansere bağlı kronik ağrının yönetiminde opioid olmayan ajanlarla yapılan tedavinin bir sonraki adımıdır. Ağrı patofizyolojisinden bağımsız olarak orta ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılmaktadır.

Güçlü analjezik etki oluşturmaları ile tercih edilen opioid ilaçlar aynı zamanda merkezi sinir sistemi üzerinde depresif etki oluşturmaktadır (McNicol vd., 2015). Tüm opioid ajanlar ile değişen derecelerde ruh hali değişiklikleri, uyuşukluk ve sedasyon oluşabilmektedir. Opioid ilaçların mutad dozlarında bulantı, kusma, gastrointestinal motilitede azalma, kabızlık, solunum yolu depresyonu, bağımlılık ve tolerans gelişimi gözlenebilmektedir (Kayaalp, 2009). Tüm bu yan etkiler, mevcut ilaçların zaman zaman tedavide yetersiz kalmaları ve etkileşim potansiyelleri nedeniyle ağrı tedavisinde etkin tedavi sağlayan birçok ilaç bulunmasına rağmen yeni ilaçların keşfine hızla devam edilmektedir.

Daha önce de bahsettiğimiz gibi eski uygarlıklardan günümüze tıbbi bitki ve bileşenleri hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır ve ilgi çekici pek çok araştırmaya da kaynak oluşturmaktadır. Tedavi amacıyla kullanılan bu doğal maddeler arasında flavonoidler özellikle son zamanlarda dikkat çekmektedir. En çok araştırılan diyet flavonoidlerinden biri olan kersetin turunçgiller, üzüm, çilek, kiraz, elma, ahududu gibi meyvelerde, soğan, lahana, brokoli, domates gibi çeşitli sebzelerde, çeşitli baharatlarda, karabuğday gibi baklagillerde, ayrıca siyah çay, kakao ve kırmızı şarapta bulunmaktadır (Mien ve Mohammed, 2001; Grawaltney-Brant, 2006; Johari vd., 2012). Yapılan araştırmalarda kersetinin nörodejeneratif etkileri, gut, pankreatit ve prostatit gibi enflamatuvar hastalıkların tedavisindeki rolleri ve çeşitli ağrı türlerindeki analjezik etkileri gösterilmektedir (Gryglewski vd., 1987; ElAttrar ve Virji, 1999; Lamson ve Brignall, 2000). Kersetinin, L-arginin, nitrik oksit, serotonin (özellikle 5-hidroksitriptamin tip 3-A reseptör aktivitesinin azaltılması), GABA-erjik ve opioid sistemler üzerine etkileriyle pronosiseptif sitokinin üretimi ve inflamatuvar ağrıya eşlik eden serbest radikal oluşumunu inhibe ederek doza bağlı analjezik etki ürettiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Lee vd., 2005). Bunların yanı sıra, incelenen araştırmalar sonucunda kersetinin, nörojenik ve inflamatuvar ağrılara karşı güçlü ve tutarlı analjezik etkiler gösterdiği de ortaya konulmuştur.

Bu çalışma kapsamında, pek çok tıbbi bitkinin içeriğinde bulunan bileşiklerden biri olan kersetinin analjezik etkisinin çeşitli araştırmalarla belirlenmiş etkili dozlarının incelenmesi ve daha düşük dozlarda oluşturacağı etkinliğin araştırılması, siklodekstrin ile oluşturulan yeni formülasyonların zamana bağlı testlerle biyoyararlanımlarının ve analjezik etkinliklerinin karşılaştırılması hedeflenmektedir.

1.1. Ağrı

Tarihsel süreci içinde değerlendirdiğimizde ağrı, insanoğlu tarafından en sık deneyimlenmiş, bu histen rahatlayarak kurtulma arayışı ile çeşitli yöntemler geliştirme ve günümüzde tıbbi tavsiye alma ihtiyacı doğuran birincil nedenler arasındadır. Hastanın bilişsel özellikleri, yaşadığı sosyokültürel ortam, ağrının farklı lezyonlarda farklı algılanması ve tarif edilmesi, değerlendiriciye bağlı değişkenliklere rastlanması gibi nedenlerle karmaşık bir süreci işaret etmesi bakımından ağrı tanımı yapılırken pek çok farklı özelliği yönünden ele alınması gereklidir, bununla birlikte anlaşılması ve yönetilmesi bakımından da önemli bir hasta gereksinimidir (Soykan ve Kumbasar, 1999).

Ağrı kavramı için kabul gören en klasik tanım, Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (International Association for the Study of Pain-IASP) tarafından yapılmıştır ve “vücudun herhangi bir bölgesinde görülebilen, var olan veya olası bir doku hasarı sonucu ortaya çıkan veya böyle bir hasar yönünden tanımlanan, sıkıntı verici, hoş olmayan, duysal ve duygusal bir deneyim” olarak tanımlanmaktadır (Merskey vd., 1979). Monheim’ e göre ise ağrı “Genel olarak zararlı uyaranlarla başlatılan, özelleşmiş bir sinir ağı üzerinden merkezi sinir sistemine iletilen ve yorumlanan, hoş olmayan bir duygusal deneyim” olarak tanımlanmıştır (Bennett, 1984).

Kuzey Amerika Hemşirelik Teşhis Derneği ağrıyı, kişinin ciddi rahatsızlık veya rahatsızlık hissi yaşadığı, bu durumu doğrudan sözlü iletişim ya da tanımlayıcı kodlar yardımıyla ifade ettiği bir durum olarak bildirmiştir (Miller-Keane, 2003). Kuzey Amerika Hemşirelik Teşhis Derneği’nin bu tanımı, McCaffery ve Pasero’nun “ağrı, subjektiftir ve deneyimleyen kişinin söylediği şeydir” ifadesiyle klinik anlamda da desteklenmiştir (Wells vd., 2015).

Tablo 1.1. Ağrının değerlendirilmesi (Wells vd., 2015).

Temel Kriterler	Değerlendirmeler
Başlangıç ve süre	Ağrı ne zaman başladı ve ne kadar süredir devam ediyor?
Palyatif faktörler	Ağrıyı iyileştiren durumlar nelerdir?
Tetikleyici faktörler	Ağrıyı kötüleştiren durumlar nelerdir?
Nitelik	Ağrının tarif edilmesi
Yerleşimi	Ağrı nerede hissediliyor?
Şiddeti/Yoğunluğu	Bu ağrı, yaşadığınız diğer ağrılarla nasıl kıyaslanır?
Zamansal Faktörler	Ağrının şiddeti zamanla değişiyor mu?

Yaş, cinsiyet, ırk, toplumsal farklılıklar veya altta yatan diğer hastalıklara bağlı olarak ağrılı uyarana farklı yanıtlar görülmektedir. Bu farklılıklara rağmen ağrının öz niteliklerinin değerlendirilmesiyle temel bir karakterizasyon elde edilebilir. Ağrıyı değerlendirilme süreci, hastanın ağrıya sahip olup olmadığının ve mümkünse kaynağının tanımlanmasını içermektedir. Tablo 1.1.'de ağrı değerlendirme aşamaları özetlenmiştir. Ağrı, fizyolojik ve koruyucu (adaptif), patofizyolojik ve zararlı (uyumsuz) ve aynı zamanda psikojenik bileşenlerden oluşabilmektedir.

1.1.1. Ağrı patofizyolojisi

İnsan vücudunda pek çok hayati fonksiyonda görevli sinir sistemi ağrılı uyarıların alınması ve bu uyarılara cevap oluşturulmasında da temel bir rol üstlenmektedir. Bu sistem içerisindeki temel algoritma; özelleşmiş reseptörler ile uyarının tanınması, bu uyarıların üst merkezlere iletilmesinde görevli yolların aktivasyonu, santral sistemin katkısı ve cevap oluşturacak şekilde uyarının anlamlandırılması şeklinde aşamalar halinde işlemektedir. Bu sürece ait detaylara ağrı mekanizmaları başlığı altında değinilecektir.

1.1.2. Nosiseptörler ve nosisepsiyon

Nosiseptörler vücudun pek çok noktasında yer alan serbest sinir uçlarıdır. Bu reseptörlerin hücresel bileşenleri spinal ve trigeminal gangliyonlarda bulunmaktadır.

Nosiseptörlerin en temel görevi termal, mekanik veya kimyasal uyarımlar ile oluşan enerjinin elektriksel sinyaller haline dönüştürülerek primer afferent liflerle medulla spinalise ulaştırılmasıdır.

Medulla spinalise uyarı taşıyan yolaklarda görevli birincil nöronlar iki tip afferent liften köken almaktadır. Bunlardan ilki mekanoreseptörlerden köken alan A-alfa ve A-beta olarak isimlendirilen kalın, miyelinli liflerdir. İkincisi ise serbest sinir uçlarında bulunan özelleşmiş ağrı reseptörlerinden köken alan ince liflerdir. Bunlar, miyelinli A-delta ve miyelinsiz C lifleridir. Genellikle A-delta lifleri uyarının niteliğine göre mekanik veya termal nosiseptörler olarak bilinirler.

Primer afferent nosiseptörler tarafından alınan sinyaller çapı 2–5 µm olan A-delta lifleri ile iletilirler. A-delta liflerinin ileti hızı 5-30 m/sn'dir. Bu nedenle A-delta liflerinin uyarılması keskin ve iyi lokalize edilen ağrı oluşumunda rol almaktadır. C lifleri ise mekanik, termal ve aynı zamanda kimyasal uyarılara duyarlı polimodal nosiseptörler olarak bilinirler. Çapları 0,4–1,2 µm, iletim hızları ise 0,5–2,3 m/sn'dir. Bu özellikleriyle lokalize edilemeyen, yaygın, şiddetli ağrı ve hiperestezi oluşumuna aracılık ederler. Dorsal boynuz nöronları ile sinaps yapan bu lifler iletimdeki sürekliliği sağlarlar (Bıçakçı ve Sarıca, 2006; Dökmeci, 2007).

Nosisepsiyon sürecinde temel olarak, nosiseptörlerin uyarılmasıyla voltaj kapılı Na^+ kanalları aktive olmakta ve oluşan aksiyon potansiyeli A-delta (miyelinli) ve C lifleri (miyelinsiz) ile omuriliğe taşınmaktadır. Aynı zamanda nosiseptörün mikro çevresine bağlı olarak da bir dizi mekanizma domino taşları gibi işlemeye başlamaktadır. Örneğin zararlı mekanik uyarının geldiği bölgedeki dokuların hücre bütünlüklerinin bozulmaları ya da zar geçirgenlerindeki değişikliklere bağlı bradikinin oluşumu gözlenmektedir. Bradikinin oluşumu nosiseptörün direk uyarılması ve damarlarda vazodilatasyona neden olurken hücre zarı üzerine etkisiyle de prostaglandin sentezine aracılık etmektedir. Prostaglandin sentezi nosiseptör duyarlılığını artırmaktadır. Aynı zamanda artan vazodilatasyon ile daha fazla endojen madde birikmesine sebep olmaktadır. Benzer şekilde trombositlerden serotonin salımı ya da hücre yıkımı ile dışarı çıkan potasyum iyonları da nosiseptörlerde aktivasyon etkisi oluşturmaktadır. Ayrıca nosiseptör uçlarından salınan P maddesi, Nörokinin-A, Calsitonin gene related peptide (CGRP) ve mast hücrelerinden salınan histamin de aktivasyon ve duyarlılık artışına neden olmaktadır (Bknz Tablo 1.2.)

Tablo 1.2. *Nosiseptif iletide görevli algojenik maddeler (Ertekin, 1987)*

Algojenik Madde	Kaynağı	Reseptör üzerine etki	Sentezi için gereken enzim
Potasyum	Hücre hasarı	Aktivasyon	-
Serotonin	Trombosit aktivasyonu	Aktivasyon	Triptofan hidroksilaz
Bradikinin	Plazma kininojen	Aktivasyon	Kallikrein
Histamin	Mast hücresi	Aktivasyon	-
Prostaglandinler	Hücre hasarı ve araşidonik asit	Duyarlılık artışı	Siklooksijenaz
Lökotrienler	Hücre hasarı ve araşidonik asit	Duyarlılık artışı	Lipoksijenaz
Sunbstance-P	Primer afferent sinir ucu	Duyarlılık artışı	-
Nörokinin-A	Primer afferent sinir ucu	Duyarlılık artışı	-
CGRP	Primer afferent sinir ucu	Duyarlılık artışı	-

1.1.3. Ağrı mekanizmaları

1.1.3.1. Periferik mekanizmalar

Duyusal bir deneyim olan ağrı hem periferik hem de merkezi sinir sisteminin rol oynadığı çok sayıda karmaşık nörotransmitter ve reseptör aracılı olaylarla ortaya çıkan karmaşık bir süreçtir. Bu süreç termal, mekanik ve kimyasal uyarıların primer afferent nosiseptörler (serbest sinir uçları) aracılığıyla algılanmasıyla başlayan bir nörotransmisyon döngüsü içerisinde gerçekleşmektedir. Başlıca aşamaları; transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyondur (Grond S. ve Sablotzki A., 2004).

Transdüksiyon: Genel anlamda bir enerji ya da sinyalin başka bir biçime, enerjiye dönüşümünü ifade etmektedir. Ağrı hissinin oluşumu hem somatik hem de visceral yapılarda bulunan nosiseptörlerin uyarılması aracılığıyla başlamaktadır. Bu uyarımı başlatan termal, mekanik, kimyasal vb. etkenlere bağlı oluşan enerji özelleşmiş sinir uçları olan nosiseptörler ile elektriksel sinyallere dönüştürülerek daha üst kortikal yapılara taşınmaktadır. Örneğin normal şiddete sahip termal bir uyarın ağrı hissi oluşturmazken eşik şiddetin üstüne çıktığında nosiseptörler ağrıya karşı duyarlı hale gelecektir.

Transmisyon: Nosiseptörlerle alınan uyarıların önce spinotalamik ağrı yolları ile talamusa ardından serebral korteks veya limbik sistem gibi daha yüksek merkezlere iletilmesidir.

Modülasyon: Ağrının daha üst kortikal alanlarda anlamlandırılmasına kadar geçen süreçte, spinal kord – beyin arasındaki yollarda ağrının değişime uğradığı (nöral etkenlerle) süreci kapsamaktadır.

Binlerce sinir lifinin bir araya gelerek oluşturduğu omuriliğin yapısına bakıldığında boynuz benzeri özelleşmiş yapılar görülmektedir. Ön ve arka boynuz olarak tanımlanan bu yapıların spinal kordda taşıdığı iletiler farklı niteliklere sahiptir. Ön boynuz kas ve dokulardan gelen uyarıları kas kasılması, ekstremitelerin hareket ettirilmesi gibi görevler için üst merkezlere ileti taşımaktadır. Arka boynuz ise duyuşal sinir lifleri ile gelen uyarıların değerlendirilmesi ve üst merkezlerde anlamlandırılmasına aracılık etmektedir. Arka boynuz içinde yer alan laminaların -özellikle lamina IV, V ve VI ağrı ile ilgili mesajların değerlendirilmesinde görev aldığı bilinmektedir.

Afferent nosiseptif ağrı liflerinin omurilikte dorsal boynuzun farklı laminalarında gerçekleştirdiği bu sinapslarla salınan nörotransmitter maddeler, ağrının daha güçlü hale getirilmesinde ya da zayıflatılmasında rol oynar. Bu modülasyona aracılık eden nörotransmitterlerden glutamat, serotonin ve P maddesi eksitator nitelikteyken, gama amino bütirik asit (GABA), glisin, nitrik oksit ve histamin ise inhibitör niteliktedir. Ayrıca endorfin ve enkefalin gibi endojen opioidler de acı ve ağrılı durumlarda nöronal adaptasyona aracılık etmektedir (Range vd., 2012; Wells vd., 2015).

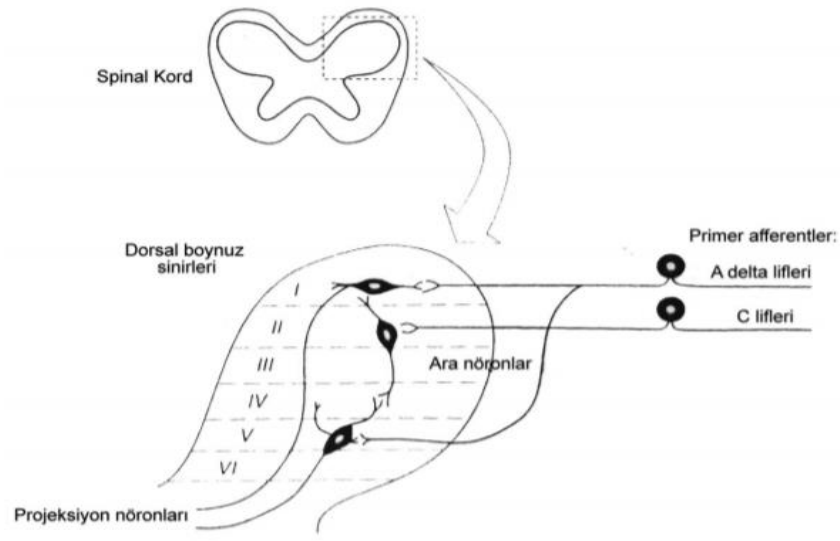
Persepsiyon: Ağrının çeşitli yollarla kortikal bölgelere iletilmesi ve öznel deneyimlerle bilinçli bir tecrübe olarak tanımlanabilir hale geldiği aşamadır. Kişinin psikojenik durumu ve subjektif duyuşal deneyimleri gibi değişkenlere bağlı olarak ağrı farklı bilişsel ve davranışsal belirtilerle ifade edilebilmektedir (McGann, 2017).

Periferik sensitizasyon: Herhangi bir doku hasarına bağlı ağrı oluştuğunda hasarlı bölgede aynı zamanda bir inflamasyon süreci başlamaktadır. Bu süreçte Lewis'in üçlü yanıtı olarak bilinen kızarıklık (kan akımının artışı), şişkinlik (doku ödemi) ve hiperaljezi gibi nörohumoral etkileşimler gerçekleşmektedir. Doku hasarına bağlı olarak makrofaj, lenfosit ve mast gibi hücrelerden farklı hücre içi madde salınımı aktive olmaktadır. Aynı zamanda nosiseptif uyaran da inflamutar yanıt oluşumuna P maddesi, nörokinin A, CGRP gibi peptitlerin salınımı ile katkı sağlamaktadır. Salınan inflamasyon mediatörlerinden biri olan potasyum (K^+), afferent nosiseptörlerin uzun süreli veya tekrarlayan şekilde uyarılmasına neden olmaktadır. Potasyumun hücre dışına çıkması ile hücreden bradikinin ve serotonin salınımı başlamaktadır.

Bradikinin C lifleri ilişkili nosiseptör aktivasyonunu oluştururken serotonin ise kızarıklık ve ödem meydana getirmektedir. Bradikinin salınımı fosfolipaz A2 ve siklooksijenaz aktivasyonu ile prostaglandin salınımını tetiklemektedir. Prostaglandinler P maddesi salınımı, vasküler permeabilite artışı ve vazodilatasyon oluşturmaktadır. Bu intraselüler madde salınım döngüsüne bağlı uyarılara yanıt olarak periferik duyarlılaşma meydana gelmektedir. Periferde travma sonrası ortaya çıkan periferik hiperaljezi ve periferik sensitizasyonun temelinde yukarıda bahsettiğimiz P maddesi, prostaglandinler, lökotrienler, bradikininler, CGRP, nitrik oksit, mast hücrelerinden salınan histamin ve plateletlerden salınan serotonin, asetilkolin dahil olmak üzere pek çok inflamatuvar mediatörlerin salınımı bulunmaktadır. Bu mediatörlerin salınımı normal uyaranlara duyarlılığın veya aksiyon potansiyeli bakımından eşik altı uyarılara yanıt verilebilirliğin artmasıyla sonuçlanmaktadır. İnflamatuvar yanıtın durdurulmasında genelde siklooksijenaz (COX) inhibitörleri olan NSAİİ'ler tercih edilmektedir (Pınar, 2010).

1.1.3.2. Merkezi mekanizmalar

Primer afferent nosiseptörler tarafından alınan uyarının omurilik aracılığıyla serebral kortekse iletildiği karmaşık yol merkezi mekanizma ile düzenlenmektedir. Afferent nosiseptif liflerin (A-delta ve C lifleri) santral terminalleri dorsal boynuzdaki lamina I (marginal zone) ve lamina II (substantia gelatinosa)'de sekonder nöronlarla sinaps yaparak sonlanmaktadır. Diğer A-delta lifleri ise lamina V'de sonlanmaktadır (Lamot vd., 2000).



Şekil 1.1. Dorsal boynuz katmanları ve Primer afferent lifler (Lamont vd., 2000).

Arka boynuzda yer alan sekonder nöronlara projeksiyon nöronları adı verilmektedir. Bu nöronlar uyarıldıklarında meydana gelen impulsların anterolateral sisteme geçişini düzenlemektedir. Sinaps yaptıktan sonra sekonder nöron lifleri ipsilateral veya kontrilateral olarak ilerlemektedir. Böylece ventrolateral kolonda yukarı doğru çıkarak bulbus, orta beyin ve talamusun ventrobazal çekirdeğine ulaşmaktadır. Projeksiyon nöronları iki grupta incelenmelidir. İlk grup çoğunlukla lamina I’de bulunan, A-delta ve C lifleri ile uyarılan nosiseptif spesifik nöronlardır. İkinci grup ise lamina I ve V’de bulunan, nosiseptörler ve düşük enerjili mekanoseptörlerden uyarı alabilen Wide Dynamic Range (WDR) nöronlarıdır. Belirli bir nöron miktarının aktivitesi eşik şiddeti aştığında normalde ağrı oluşturmeyen dokunma uyarıları da ağrılı olarak algılanmakta ve allodini gelişmektedir. Nosiseptif spesifik nöronlar ağrılı uyarılara yanıt oluştururken WDR nöronlar hem ağrılı hem de ağrısız uyarılara karşı yanıt oluşturmaktadır (Erdine, 2012).

Arka boynuz nöronlarında ve afferent sinir liflerinin uçlarında üretilen depolanan ve salınan nöromediatörler ve nörotransmitterler ağrı iletiminde kilit bir rol üstlenmektedir. Bu aminoasit ve nöropeptitler eksitator ya da inhibitör özellik gösterebilmektedir. Glutamat gibi eksitator amino asitler ligand kapılı sodyum/potasyum (Na^+/K^+) iyon kanalı üzerine kısa etkili depolarizasyon oluştururken N-metil-D aspartik asit (NMDA) reseptörleri üzerine etkileri ile de uzun süreli depolarizasyon oluşturmaktadır.

Primer afferentlerden saliverilen P maddesi, nörokinin A, kolesistokinin (CCK) ve CGRP gibi nörapeptidler ise yavaş eksitator postsinaptik potansiyellerin iletiminde görevlidir. C liflerinin eksitasyonu sonucu oluşurlar. Opioid (mü ve kappa reseptörleri), serotonin (5 hidroksitriptamin-5 HT), GABA ve adenosin nosiseptif düzenlemede yer alan diğer reseptörler arasındadır (Melzack ve Wall, 1965).

Projeksiyon nöronlarının büyük kısmı sinapsın ardından ağırlı uyarıyı santral kanalın altından, commissura alba anterior'da çapraz yaparak kontrateral ön boynuzda gri cevher içerisinde anterolateral olarak uzanan spinotalamik yolu oluşturur ve talamusa ulaştırır. Spinotalamik yol nöronları, talamustaki üçüncü dereceden nöronlarla ventral posterolateral (VPL) çekirdek, periaquaduktal gri madde, retiküler formasyon ve raphe magnus çekirdeğinde sinapslar yapar. Ağrı yolağının son aşamasında somatosensoriyel alanlar ile sylvian fissürün üst kısmına giden lifler 4. nöronlar ile sinaps yaparak sinyali somatik duyuşal kortekse aktarır. (Heavner, 2005).

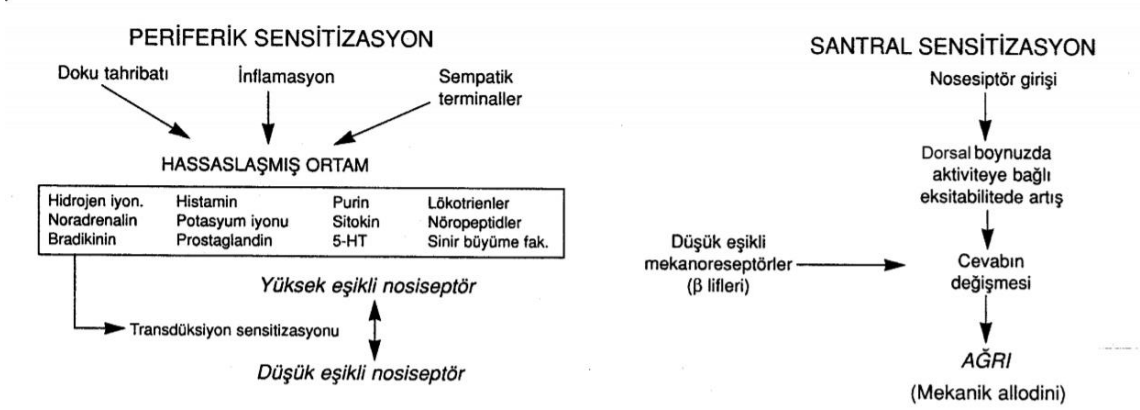
Santral sensitizasyon: Ciltte meydana gelen hiperaljezinin, nosiseptörlerin duyarlılık gösterdiği alan dışında da yayıldığını gösteren çalışmalar bu mekanizmadaki santral bileşenlerin varlığına işaret etmiştir. 1983 yılında yapılan deneysel çalışmalarla hiperaljezide santral bileşenlerin varlığı ortaya konulmuştur. Genel olarak bu merkezi duyarlılaşma, sinir sistemindeki nosiseptörlerin normal veya eşik aksiyon potansiyelinin altındaki afferent uyarılara verilen cevapların artması ile ifade edilmektedir. Böylece tek başına ağrı hissi oluşturamayan periferik uyarıların spinotalamik nöronları uyarak ağrı oluşumunda etki gösterdiği belirlenmiştir. Santral sensitizasyon sonucu klinik olarak ağrı şiddeti artmakta ve allodini meydana gelmektedir. Santral sensitizasyon mekanizmasının daha çok kronik ağrılı durumlarda görev aldığı bilinmektedir (Woolf ve Chong, 1987; Aldemir, 2000).

Normalde dokunma, titreşim gibi duyuşların iletiminde görevli A-beta afferentlerini aktive eden periferik doku hasarına bağlı, uyarı sonrasında ağrı oluşumu gözlenebilmektedir. Bu durumu açıklamakta kullanılan santral sensitizasyon mekanizmasının gizemi omurilik arka boynuzunda gerçekleşen değişimlerle açıklanabilmektedir. Ağrı iletiminde görevli A-delta ve C liflerinin uyarılmasıyla ise çeşitli nörotransmitterler ve nörapeptitler salınmakta ve böylece yavaş sinaptik potansiyeller meydana gelmektedir.

Primer afferent liflerle ile taşınan uyarıların çok az bir kısmı bu aksiyon potansiyelini oluşturma yetisinde olmasına rağmen bu düşük frekanslı uyarılar tekrarlayan türde olduklarında gerekli eşik aksiyon potansiyeli ortaya çıkmaktadır. Bu duruma sumasyon adı verilmektedir. Dorsal boynuzda gerçekleşen bu olay da düşük eşik potansiyelleri ile ağrı oluşumunda santral sensitizasyon mekanizmasının etkisi ile ilgili bilgi vermektedir.

C liflerini uyuracak frekansa sahip bir ağırlı uyaran varlığının hem arka boynuz nöronları hem de bütün nöronal aktivite üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. Dorsal boynuzda özellikle lamina V'de yer alan WDR nöronlarında C lifi uyarımının kesilmesinden sonra dahi uzun süreli ve artan depolarizasyonun varlığı gözlenmiştir. Bu durum wind up fenomeni ile açıklanmaktadır. Wind up fenomeni oluşumuna temel olan artmış depolarizasyon sebeplerinden ilki aspartat ve glutamatın NMDA reseptör aktivasyonuna sebep olmalarıdır. Diğer sebep ise nörokinin A ve P maddesi gibi maddelerin taşıkinin reseptörlerini uyarmasıdır. Bu reseptör aktivasyonları hücre içine giren kalsiyum (Ca^{++}) guanozin trifosfat (GTP) bağlayan proteinlerini aktive eder. Spinal kordda düzeyleri değişen ikinci haberciler protein kinaz aktivitesini etkiler. Protein kinaz aktivitesindeki bu değişiklik ise NMDA reseptörlerinin uyarılabilirliğini artırarak hiperalzeji gelişimine katkıda bulunur. Taşikin ve NMDA reseptör antagonistlerinin santral sensitizasyonun gelişimini engelleyebildikleri deneysel olarak gösterilmiştir. Ayrıca ikinci haberciler dinorfin, enkefalin gibi bazı endojen peptidlerin düzeylerini değiştirerek de etki göstermektedir (Yılmaz ve Ergin, 2006).

Bunun dışında dorsal kök boynuzunda nöronların artmış spontan aktiviteleri sonucu etkili olduğu algılama alanı genişler, eşik üstü uyarılara verilen cevabın şiddeti ve süresi artar, mekanoreseptörlere verilen olası yanıt artışı gözlenir ve uyarı eşğinde azalma gibi değişimlerin gözlenmesi de santral sensitizasyona aracılık etmektedir. Postoperatif ağrı, akut ağrı ve kronik ağrılarda meydana gelen değişimlerde sensitizasyon mekanizmaları yer almaktadır (Erdine, 2012).



Şekil 1.2. Periferik ve santral sensitizasyon (Wolf ve Chong, 1993'ten uyarlanmıştır)

1.1.4. Ağrı yolları

Başlıca nosiseptif çıkıcı yollar ve antinoseptif inisiyasyon yolları şeklinde iki kısımda incelenmektedir.

1.1.4.1. Nosiseptif çıkıcı yollar

1.1.4.1.1. Spinotalamik yol

Spinotalamik yol spinal korddaki en önemli nosiseptif yoldur. Uyarana bağlı olarak lamina I, V ve VII'da yer alan nosiseptif spesifik ve WDR nöronlarının aksonlarından iletime başlar. Anterolateral çıkıcı sistem içinde uyarı ilerler. Medulla spinalisde çapraz yaparak talamusun ventral posterolateral çekirdeğinde (yani 3. nöronunda) sonlanır. Talamusdan çıkan uzantılar ise serebral kortekse ulaşır ve post santral girusda sonlanır. İki kısımdan oluşur. Anterior spinotalamik yol, dokunma hakkında bilgi taşıırken, lateral spinotalamik yol ağrı ve sıcaklık ile ilgili bilgileri taşımaktadır. Spinotalamik yol ağrılı impulsları en hızlı ileten yoldur ve somatotopik organizasyonu bulunmaktadır. Somatotopik lokalizasyon medial, torakal, lomber ve sakral komponentlerin segmental organizasyonu olup, kendilerine özgü primer duyu korteks bölgelerine iletinin ulaşmasını sağlamaktadır. Bu yol ağrının yeri, şiddeti ve zamanı hakkında bilgi vermektedir. Aynı zamanda ağrıya karşı kortikal/subkortikal dikkatin (arousal) oluşmasına aracılık eder (Lamot vd., 2000; Aydın, 2002).

1.1.4.1.2. *Spinoretiküler yol*

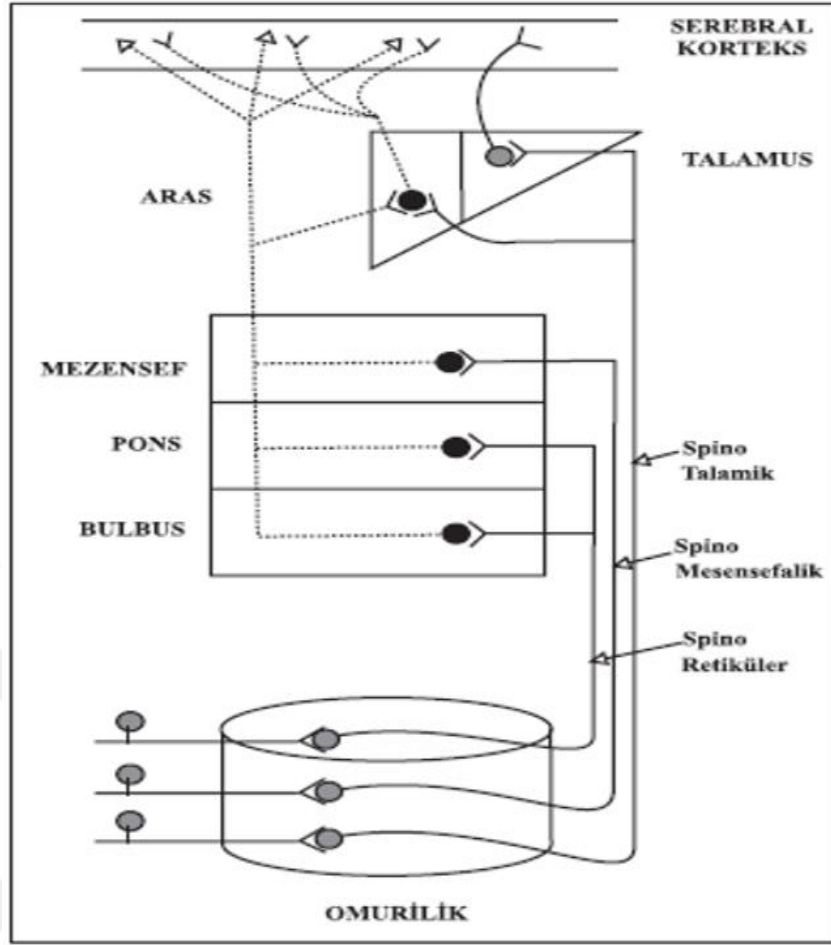
Nosiseptif nöronların aksonları lamina VII ve VIII'de spinoretiküler yolları oluştururlar. Anterolateral çıkıcı sistemde ilerleyen çapraz yapmış dorsal boynuz aksonlarından oluşur. Bulbus ve pontaki retiküler çekirdeklerine ulaşır ya da kollateraller verir. Spinal kordun beyaz maddesinin anterolateral kısmından bilateral olarak uzanırlar. Spinoretiküler yoldaki nöronların bir kısmı retiküler oluşumdaki çeşitli intralaminar çekirdeklerde sonlansa da bazı lifler talamusa kadar gider. Spinoretiküler yol ile nöronal bilgi amigdala (hafıza ve emosyon), singulat gyrusun ön parçası (emosyon), hipotalamus (emosyon ve emosyona vasküler yanıt) gibi farklı bölgelere ulaşır. Korteks, limbik sistem ve diensefalon için genel uyanıklık hali oluşturmak ve zararlı uyarana karşı alarm hali oluşturmakta görevlidir (Ertekin, 1987).

1.1.4.1.3. *Spinomezensefalik yol*

Lamina I ve V'ten köken alan nosiseptif nöronlar spinomezensefalik yoldan çıkarak mezensefalik retiküler oluşuma, periakvaduktal gri maddenin latereline ve orta beyin çeşitli bölgelerine gelirler. Bu beyin kökündeki parabrakial nükleusa giden yolakla benzer olabilir. Spinomezensefalik yolun periakvaduktal bölgede analjezik etki sağlayan enkefalinergic nöronlarla bağlantı yapması nosisepsiyon için katkı sağlamaktadır. Ayrıca bu bölge limbik sistem, hipotalamus ve korteksle de ilişki içerisinde (Aydın, 2002).

1.1.4.1.4. *Dorsal kolon yolu ve spinoservikal yol*

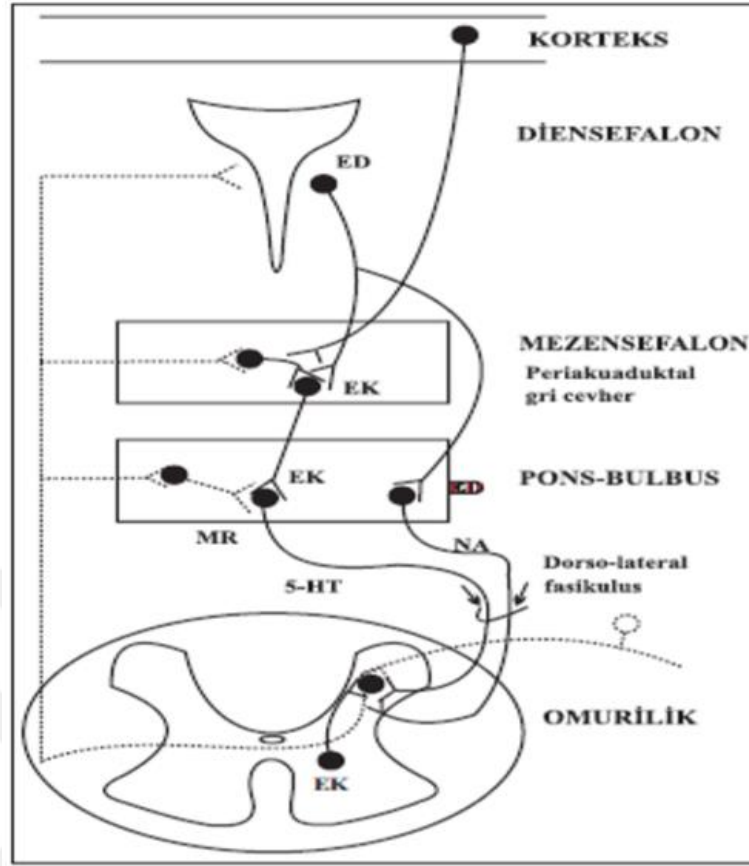
Dorsal boynuzun III ve IV. laminalarındaki nöronların aksonları spinoservikal ve postsinaptik dorsal kolon yolu ile üst merkezlere iletilirler. Gelen impulslar sırasıyla lateral servikal ve dorsal kolon çekirdekleri aracılığı ile indirekt olarak talamusa taşınırlar. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, nosiseptif uyarının dorsal boynuzdan hipotalamusa direkt olarak iletildiğini gösteren veriler de vardır. Dudak, dil, deri, genital organlar, gastrointestinal traktus, intrakranial kan damarı ve korneadan alınan duyuşsal bilginin doğrudan hipotalamusa iletilmesinde rol aldığı düşünülmektedir (Sorkin, 1997; Lamont vd., 2000).



Şekil 1.3. Çıkan ağrı yolları (ARAS: Assendan retiküler aktive edici sistem) (http-1)

1.1.4.2. Antinosiseptif inisi yollar

Antinoseptif etkiler, lamina I ve lamina II’de yer alan sekonder nöronlar üzerine K^+ mebran geçirgenliğinin artırılması ve buna bağlı hiperpolarizasyon ile meydana gelmektedir. GABA gibi inhibitör nörotransmitterler, periferik veya ara nöronlardan salınan somostatin ve bombesin gibi nöropeptitler, enkefalin, endorfin antinoseptik yollarında görev almaktadır (Erdine, 2012).



Şekil 1.4. İnen ağrı yolları (EK: Enkefalin, ED: endorfin, , NA: Nöradrenalin, 5-HT: 5 Hidroksitriptamin) (http-1)

1.1.5. Ağrı sınıflandırılması

Ağrı pek çok farklı şekilde sınıflandırılabilir. IASP Taksonomi Alt Komitesi ağrı 5 farklı eksen çevresinde gruplandırmıştır (Tablo 1.3.) (Aydın, 2002)

Tablo 1.3. IASP Eksen Sınıflandırması (Aydın, 2002'den uyarlanmıştır.)

Eksenler	Sınıflandırma kriterleri
1. Eksen	Ağrının yer aldığı vücut bölgesi
2. Eksen	Ağrının etkilediği sistemler
3. Eksen	Ağrının oluşum süreci ve karakteristik özellikleri
4. Eksen	Ağrının şiddeti ve geçen süre (Hasta ifadesine göre)
5. Eksen	Ağrının etiolojisi

Sık kullanılan diğer sınıflandırmalar ise ağrının başlama süresi, mekanizması ve kaynaklandığı bölge göz önünde bulundurularak yapılmaktadır.

1.1.5.1. Ağrının başlama süresine göre sınıflandırılması

Akut ağrı: Akut ağrı tipik olarak ani başlayan ve kısa süreli bir ağrıdır, 3 ila 6 aydan daha kısa sürer. Bu ağrı genellikle belirli bir hastalık, doku hasarı, enfeksiyon, travmaya neden olan tıbbi süreçler (cerrahi, doğum vb.) ile ilişkilidir ve seyri nosiseptiftir (Dinçer ve Erdine, 2003).

Kronik Ağrı: Kronik ağrı ise 3 ila 6 aydan uzun süreli ağrıları tarif etmede kullanılır. Kronik ağrı doku hasarı, travma, enfeksiyon vb. ağrı nedenleri dışında genellikle sinir fonksiyonu ve iletimindeki değişikliklerin bir sonucudur, bu nedenle tedavi edilmesi daha zor ve uzun bir süreç gerektirir. Çoğu kez nosiseptif özellik gösterir. Kronik ağrı öznel ve duyuşsal, davranışsal, psikolojik faktörlerin rol oynadığı bir ağrı çeşididir (Gonzales vd., 2000). Otonom sisteme dair yanıtlar akut ağrıdaki kadar fazla değildir, sempatik tonusun artışı ve nöroendokrin fonksiyonda ise belirgin artış gözlenir (Dinçer ve Erdine, 2003).

1.1.5.2. Ağrının mekanizmalarına göre sınıflandırılması

Nosiseptif Ağrı: Vücudumuzda fizyolojik veya fizyopatolojik olaylarla meydana gelen uyarıların deri, kas ve iç organlarda bulunun özelleşmiş serbest sinir uçları-nosiseptörler- tarafından algılanıp sinir sistemine iletilmesi ile hissedilen ağrıdır. Bu özelliği ile vücudu koruyucudur. Somatik veya viseral doku hasarına bağlı sızlayıcı, bıçak batar gibi, zonklayıcı, kramp şeklinde ve keskin olabilir (Erdine, 2007).

Nöropatik Ağrı: Somatosensoryal sistemdeki santral veya periferik hasarlar veya lezyonlar sonucu ortaya çıkan, ıstırap verici ve tedavisi güç ağrıdır (Treede vd., 2008). Tipik olarak parestezi, yanma, hipoestezi, disestezi, elektrik çarpar tarzda ağrı, hiperaljezi, allodini vb. belirtilere sahiptir. Sürekli bir nosiseptif uyarının bulunmaması ile nosiseptif ağrıdan ayrılır (Nicholson, 2006). Spinal kord hasarı, diyabetik nöropati, multipl sklerozis, herpatik nevralji, epilepsi ve inme gibi yapısal değişiklikler karakteristik örnekler arasındadır (Jensen ve Gottrup, 2003).

Deafferantasyon Ağrısı: Periferik veya santral sistemdeki hasarlara bağlı oluşan uyarıların nosiseptörlerce algılanıp spinal kordda merkezi sinir sistemine iletimi sırasında kesintiler meydana gelmesiyle ortaya çıkar. Yanıcı özelliktedir. Fantom ağrı örnek olarak verilebilir.

Reaktif Ağrı: Sempatik ve motor afferentlerde refleks aktivasyona bağlı ortaya çıkan ağrıdır. Miyofasial ağrı örnek verilebilir (Aydın, 2002).

Psikosomatik Ağrı: Kişinin yaşadığı psikolojik sorunlara bağlı olarak doku hasarı varmış gibi ağrı hissedilmesi halidir. Anksiyete ve depresyon gibi durumlarda görülebilmektedir (Türkoğlu, 1993).

1.1.5.3. Ağrının kaynaklandığı bölgeye göre sınıflandırılması

Somatik Ağrı: Somatik dokularda bulunan nosiseptörlerin uyarımı sonucunda oluşan ağrıdır. Keskin, ani başlayan, iyi lokalize olan ağrılardır (Patt, 2002).

Viseral Ağrı: İç organlarda görülen hasara bağlı uyarıların oluşturduğu, gerilme tarzındaki ağrıdır. Otonom aferent sinir lifleri ile merkezi sinir sistemine iletilir. Başlangıcı yavaştır, başka dokulara yayılabilen, iyi lokalize olmayan, sızlayıcı tipte ağrıdır. Kas rijiditesi ve hiperestezi eşlik edebilmektedir (Patt, 2002).

Sempatik Ağrı: Sempatik sinir sistemi kaynaklı ağrılardır. Örneğin; CRPS (kompleks rejyonel ağrı sendromu) ve kozaljiler.

Parasempatik Ağrı: Periferik sinir sistemindeki hasardan veya doğrudan periferik sinirlerden kaynaklanan ağrılardır.

1.1.5.4. Ağrının etiyolojik nedenlere göre sınıflandırılması

Ağrıya sebep olan kaynağa göre yapılan sınıflandırmadır. Kanseri ağrısı, postherpetik nevralji, orak hücre anemisine bağlı ağrı ve artrit ağrısı örnek verilebilir.

1.1.5.5. Rejyonel (Bölgesel) ağrı sınıflaması

Baş ağrısı, boyun ağrısı, yüz ağrısı, pelvik ağrı, bel ağrısı gibi ağrıya neden hasarın anatomik yeri ile ifade edilen ağrı sınıflandırmasıdır.

1.1.6. Akut ağrı

Akut ağrı, patolojik hale gelebilecek zararlı bir uyarıcı ile ilişkili, organizmanın hızlı yanıtı veya fizyolojik bir reaksiyonu olarak tanımlanabilmektedir (Vecchio ve De Pascalis, 2020). Aynı zamanda vücudumuz için uyarı işareti görevi gören koruyucu bir role sahiptir.

Ağrı; keskin, donuk, karıncalanma hissi veren, ani, yayılıcı ve dalgalanma niteliğinde, yoğunluğu ve yeri değişiklik gösteren nitelikte olabilmektedir.

Hipertansiyon, taşikardi, midriyazis, terleme ve solgunluk gibi tipik belirtiler görülse de tanı için yeterli değildir. Bazı durumlarda belirgin fiziksel işaretler yoktur ve komorbid durumlar genellikle mevcut değildir. Tedavinin sonucu genellikle tahmin edilebilmektedir (Wells vd., 2015).

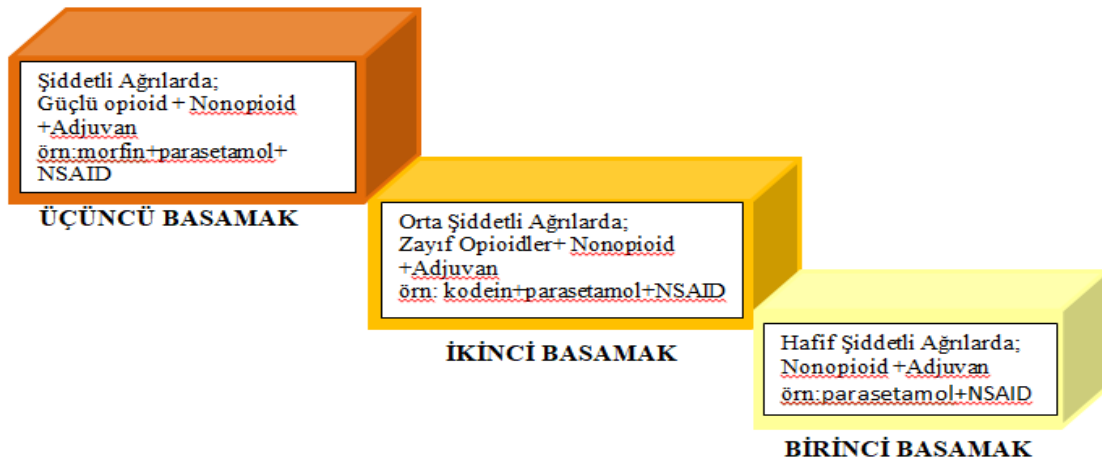
Akut ağrının tedavisi hastanın rahatsızlığını ve acısını azaltırken, hastanın fizyolojik ve psikolojik durumunu da iyileştirmeyi hedeflemektedir. Zamanında kontrol edilemeyen ağrı, inflamatuvar sitokinlerin artışına ve sürekli nosiseptif stimülasyona bağlı periferik ve merkezi duyarlılaşmayla sonuçlanarak kronik ağrı riskinde artışa neden olabilmektedir. Psikolojik olarak da artan kaygı, uykusuzluk ve çaresizlik hissine yol açabilmektedir (Ng ve Cashmann, 2018).

1.1.7. Ağrı tedavisi

Ağrı tedavisinde istenen sonuçlara ulaşmak için başlıca iki strateji bulunmaktadır. Bunlar; farmakolojik tedavi ve farmakolojik olmayan tedavidir.

1.1.7.1. Farmakolojik tedavi

Ağrının farmakolojik tedavisi için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) artan analjezik etkinlik gözetilerek yapılandırılmış üç basamaklı merdiven yaklaşımını önermektedir.



Şekil 1.5. DSÖ analjezik merdiveni (<http-2>'den uyarlanmıştır.)

1.1.7.1.1. Basit analjezikler

Asetaminofen (parasetamol), asetilsalisilik asit ve NSAİİ'ler genellikle hafif ila orta şiddetteki ağrı tedavisinde ilk akla gelen ajanlardır. Asetilsalisilik asit gastrointestinal yan etkileri ve trombosit agregasyonunu dönüşümsüz olarak inhibe etmeleri nedeniyle günümüzde pek kullanılmamaktadır (Eti, 2010).

Parasetamol: Yaygın olarak kullanılan basit bir analjezik ve antipiretik ilaçtır. Etki mekanizması tam olarak anlaşılamamakla birlikte santral prostaglandin modülasyonuna bağlı siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu ve alçalan inhibitör serotonin yollarının aktivasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Parasetamol, NSAİİ'ler ve opioid pek çok analjezik ajan ile kombine edilebilmektedir. Önerilen dozlarda minimum yan etki oluştururken yüksek dozlarda karaciğer yetmezliğine neden olabilmektedir (Hay ve Nesbit, 2019).

Non Steroidal Antiinflatuar İlaçlar: NSAİİ'ler, zararlı uyaranlara tepki olarak üretilen çeşitli prostaglandinlerin oluşumunu COX (COX-1 ve COX-2) enzim inhibisyonu ile engeller ve merkezi sinir sistemi (MSS) tarafından alınan ağrı sinyallerini azaltırlar. Ayrıca antipiretik ve antiinflatuar özellik gösterirler.

NSAİİ'ler hafif ve orta şiddetli ağrı tedavisinde tek başlarına analjezik ajan olarak kullanılmaları dışında daha şiddetli ağrılarda kullanılacak opioid dozunu düşürmeleri ve daha az yan etki oluşturmalarıyla da ağrı tedavisinde tercih edilmektedirler. NSAİİ'ler, kansere bağlı kemik ağrısının tedavisinde ve kronik bel ağrısının tedavisinde kısa süreli rahatlama için kullanılmaktadır (Melli ve Kayaalp, 2009; Zarghi ve Arfaei, 2011).

NSAİİ'lerin kronik kullanımı gastrointestinal, renal, solunum, hematolojik ve kardiyak sistemler üzerinde ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. NSAİİ etkinliklerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda etkinlik açısından anlamlı bir farklılık göstermedikleri için uygun ajan seçimi uygulanabilirlik, maliyet, farmakokinetik, farmakodinamik özellikler ve yan etki profiline göre belirlenmektedir. İbuprofen, diklofenak, ketorolak, piroksikam gibi selektif olmayan NSAİİ'ler, COX-2 selektif selekoksib, parekoksib gibi ilaçlarla kıyaslandığında daha güvenli yan etki profili göstermektedir (Kelle, 2006; Macintyre vd., 2015). Basit analjezik ajanlar ve bazı özellikleri Tablo 1.4. 'de özetlenmiştir.

Tablo 1.4. FDA onaylı basit ve nonopioid analjezikler (Wells vd., 2005)

Grup ve Jenerik Adı (Marka Adı)	Ortalama Genel Doz Yarılannm Ömrü (saat)	Rejimi (mg)	Max (mg/gün)	Doz
Salisilatlar				
Asetilcalisilik asit – Aspirin	0,25	325-1000 her 4-6 saatte	4000	
Kolin ve Magnezyum Trisalisilat	9-17	1000-1500 her 12 saatte 750 her 8 saatte (nadiren)	3000	
Diflunisal (Dolobid)	8-12	Başlangıçta 500-1000 her 8-12 saatte	1500	
Salisalat	1	Devam dozu 250-500 her 8-12 saatte 1000 her 12 saatte ya da 500 her 6 saatte	3000	
Paraaminofenol				
Asetominofen (Tylenol-oral) (Ofirmev-parenteral)	2-3	3225-1000 her 4-6 saatte	4000	(kiloya göre daha düşük olabilir)
Fenamatlar				
Meklofenamat	0,8-3,3	50-100 her 4-6 saatte	400	
Mefenamic asit – Ponstel	2	Başlangıç 500,250 her 6 saatte (max 7 gün)	1000	
Pyrenokarboksilik asit				
Etodolac	7,3	200-400 her 6-8 saatte	1000-1200	
Asetik Asit				
Diklofenak K+ (Cataflam, Flector, Voltaren Jel, Pennasid)	1,9	Başlangıç dozu 100, 50 günde 3 kez Transdermal formları-ağrı bölgesinde günde 2 kez Jel ve solüsyon formları spesifikler.	150	
Propiyonik Asit				
Ibuprofen (Motrin, Caldolor vb.)	2-2,5	200-400 her 4-6 saatte (iv.), 400-800 her 6 saatte	3200, 1200	2400,
Fenaprofen (Nalfon vb.)	3	200 her 4-6 saatte	3200	
Ketoprofen	2	25-50 her 6-8 saatte	300	
Naproxen (Naprosyn, Anaprox vb.)	12-17	500 başlangıç	200	
Naproxen Na+(Aleve vb.)	12-17	Bazı hastalarda başlangıç 440, 220 her 8-12 saatte	660	
Pirazoline Karboksilik Asit				
Ketalarac (Toradol, parenteral)	5-6	30-60 (IM. Doz) 15-30 (IV. Doz)	30-60 15-30	
Ketolarac-oral	5-6	15-30 her 6 saatte (IV Doz),max 5 gün 10 her 4-6 saatte (Max 5 gün, parenteral)	60-120 40	
Ketolarac-nasal sprey		Yaşlı olmayan hastalarda başlangıç oral doz 20 Her bir burun deliğine 1 sprey (15,75 mg) her 6-8 saatte (yaş<65 ve kilo≥50 kg)	126	
Pirazol				
Celecoxib (Celebrex)	11	İlk 400 mg'ı takip eden ilk günde 200 mg, ardından günde iki kez 200 mg (Bazı kardiyovasküler endişeler nedeniyle opt. Doz 200 mg/gün)	400	

1.1.7.1.2. Opioid ajanlar

Morfin, kodein gibi doğal alkaloidlerin sentetik ve yarı sentetik türevlerinden elde edilen orta ve şiddetli ağrı tedavisinde kullanılan analjezik ajanlardır. Opioidlerin farmakolojik aktivitesi, beyin, spinal kord ve periferik sinir uçlarında bulunan özel reseptörlerine gösterdiği afinitelerine ve etkilerine bağlıdır.

Opioid reseptörleri, G-proteine bağlı reseptörlerdir. Bilinen opioid reseptörler; mü opioid peptit (MOP), kappa opioid peptit (KOP), delta opioid peptit (DOP) ve nosiseptin opioid peptit (NOP)'dur. Bu reseptörlerin aktivasyonu, nosiseptörlerin uyarılabilirliğinin ve ağrı iletiminden sorumlu maddelerin salınımının azalmasına neden olmakta, ağrının beyinde algılanmasını inhibe etmektedir. Opioid ajanlar, agonist, parsiyal agonist ve agonist-antagonist reseptör ilişkileri ile etkileri yanında bazı yan etkilere de neden olurlar.

Opioidlerin yan etkileri arasında solunum depresyonu, sedasyon, öfori, bulantı ve kusma, gastrik staz, kabızlık, kaşıntı, idrar retansiyonu, bağışıklık ve endokrin sistem disfonksiyonu bulunmaktadır. Ayrıca sık tekrarlanan dozlarda tolerans gelişimi ve fiziksel bağımlılık riski bulunmaktadır. Bazı opioidlerin kullanımında dikkat edilmesi gereken unsurlar Tablo 1.5.'te ve opioidlerin başlıca yan etkileri Tablo 1.6.'da özetlenmiştir.

Tablo 1.5. Opioidlerin kullanımında dikkat edilmesi gereken durumlar (Wells vd., 2005).

İlaçlar	Uyarılar	Notlar
Kodein	Özellikle emziren annelerde ve çocuklarda kullanılmamalıdır.	Kodein bir ön ilaçtır, analjezik üretmek için CYP2D6 tarafından morfine dönüştürülmektedir.
Meperidin	Kullanılmamalı	Sık dozaj gerektiren kısa analjezi süresine sahiptir. Non-analjezik, toksik metabolit, normeperidin, nöbetlerde birikim sonucu oluşur, böbrek fonksiyon bozukluğunda birikme riski artar.
Agonist/Antagonist Ajanlar	Dikkatli olunmalı	Kronik opioid kullanan hastalarda opioid yoksunluğu gözlenebilir. Diğer opioidlere kıyasla daha yüksek psikomimetik reaksiyon oranı bulunur.
Tramadol	Dikkatli olunmalı, özellikle yaşlılarda ve renal yetmezliği olanlarda	Tramadol bir ön ilaçtır. CYP 2D6 ile metabolize edilip desmetiltramadol (M1) tarafından analjeziyi üretmek için dönüştürülmesi gerekir. 2D6'nın yüksek polimorfizm derecesi, ultra hızlı metabolizma = toksisite, zayıf metabolizm = analjezi yok Nöbet riski, serotonin sendrom riski, hipoglisemi riski.

Tablo 1.6. *Opioid analjeziklerin majör yan etkileri (Erdine, 2012'den uyarlanmıştır).*

Etki	Belirtileri
Duygu Durum Değişiklikleri	Öfori, Disfori
Uyku Hali	Sedasyon, Azalmış konsantrasyon
CTZ Uyarılması	Kusma, Bulantı
Solunum Yolu Depresyonu	Azalmış solunum hızı
GIS Motilitesinde Azalma	Kabızlık
Sfinkter Tonüsde Artış	Biliar spazm, Üriner retansiyon (Ajanlar arasında değişiklikler gözlenir.)
Histamin Salınımı	Ürtiker, Kaşıntı, Bronş spazmına bağlı nadiren astım alevlenmesi (Ajanlar arasında değişiklikler gözlenir.)
Tolerans	Benzer etkiler için daha geniş doz aralığı
Bağımlılık	Aniden kesilme sonrası yoksunluk belirtileri
Alışkanlık	Genetik yatkınlık, uyuşturucu kullanımının kontrol altına alınması, zararına rağmen sürekli kullanma, kullanım isteği ve yoksunluk
Hipogonadizm	Yorgunluk, Depresyon, Analjezi kaybı, Seksüel disfonksiyon, Amenore
Uyku	Bozulmuş uyku-uyanıklık döngüsü, Doza bağlı hızlı göz hareketi (REM) baskılanmasına neden olur

Tramadol: MOR reseptörlerine bağlanır, serotonin ve daha az oranda da norepinefrin geri alımını inhibe eder. Orta derecede şiddetli ağrının giderilmesi için endikedir. Tramadol, morfinden daha az solunum depresyonuna ve gastrointestinal yan etkilere neden olur, ancak özellikle yaşlılarda disfori ve halüsinasyonlara neden olabilir. Serotonin geri alım inhibitörleri ve serotonin sendromuna neden olan trisiklik antidepresanlar ile etkileşime girme potansiyeline sahiptir, bu nedenle bu hastalarda Tramadol'den kaçınılmalıdır.

1.1.7.1.3.Yardımcı analjezikler

Ko-analjezikler, ağrının yönetiminde analjezik ajanları yararlı kılan, ancak tipik olarak analjezik olarak sınıflandırılmayan, bireysel özelliklere sahip, farklı bir farmakolojik ajan grubunu temsil eder. Ko-analjeziklerin örnekleri arasında antidepresanlar ve antikonvülsanlar bulunmaktadır. Nöropatik bir bileşene sahip olan kronik ağrı (örneğin diyabetik nöropati) sıklıkla ko-analjezik tedavi gerektirir

- Antikolülsanlar (örneğin; nöronal uyarılabilirliği azaltabilen pregabalin, gabapentin),

- Trisiklik antidepresanlar (Amitiptilin), serotonin ve norepinefrin reuptake inhibitörü antidepresanlar (örneğin, nortriptilin, duloksetin, venlafaksin -bunlar da serotonin ve norepinefrinin geri alımını engeller, böylece ağrı inhibisyonunu artırır.)
- Topikal olarak uygulanan lokal anestezikler (sinir stimülasyonunu azaltan) Kanser ağrısının tedavisinde radyofarmasötikler (örneğin. Stronsiyum-89 veya samaryum), kortikosteroidler ve bifosfonatlar kemik ağrısının tedavisinde yararlı ko-analjeziklerdir.
- Antihistaminikler ve amfetaminler ko-analjezik olarak kullanılmasına rağmen, sadece sınırlı başarı göstermiştir.

1.1.7.2. Farmakolojik olmayan tedavi

Nonfarmakolojik terapiye, tek başına ya da uygun analjezik ile birlikte, akut ağrı tedavisinin başlangıç basamağında yer verilebilmektedir. Fiziksel manuplasyon, ısı veya soğuk uygulanması, masaj, biyofeedback, bilişsel davranışsal terapi, akupunktur, gevşeme ve egzersiz hem akut hem de kronik ağrı için değişken etkinlik gösteren tedavi yöntemleridir. İmplant edilmiş omurilik uyarıcılarının, bazı ağrı durumlarında bir miktar faydalı olduğu da bulunmuştur. Yaygın olarak kullanılan bir tedavi yöntemi olan Transkutanöz Elektriksel Sinir Stimülasyonları (TESS), merkezi sinir sistemi içerisinde doğal inisiyasyon yolları üzerine etkilileri ile ağrıyı azaltabilmektedir. Ayrıca psikolojik tekniklerin (bilişsel davranışsal terapi, gevşeme eğitimi ve farkındalık temelli kontrol vb.), ağrı ilişkili bozukluğun azaltılmasında ve çeşitli kronik ağrı türleri gözlenen hastalarda, günlük fonksiyonların iyileştirilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir (Hay ve Nesbitt, 2019). Ayrıca opioid kullanımına yönelik eğilimin azaltılmasında yardımcı rol üstlenmesiyle nonfarmakolojik terapi ağrının tedavisinde kısıtlı bir katkı sunmaktadır.

1.1.8. Nöroseptif ağrı modelleri

DeneySEL ağrı modelleri analjezik etkili veya analjezik etki açısından potansiyel moleküllerin özelliklerinin ve potenslerinin saptanması, test edilen bileşiğe dair veri toplanması bakımından oldukça önemlidir. Termal, elektriksel, mekanik veya kimyasal uyarılar kullanılarak yapılan testler, enflamatuar veya nöropatik ağrı modelleri araştırmalara temel oluşturmuş sık kullanılan metotlardır (Barrot, 2012).

1.1.8.1. Elektriksel uyaran testleri

Testlerde kullanılan elektriksel uyarı doğal ve spesifik olmayan uyarımlardır. Aktif veya pasif kaçınma, koşullanmış korku, öğrenilmiş çaresizlik gibi davranış deneylerinde elektriksel şok vb. yararlanılmaktadır. Değerlendirme zamana bağlı olarak uygulanan elektriksel eşiklere deney grubunun verdiği kaçma, atlama, ses çıkarma gibi belirteçler yardımıyla yapılmaktadır. Hemen hemen tüm nosiseptif testlerde olduğu gibi, bu testler de beklenen tepki gözlenir gözlenmez durdurulur. Testte beklenen cevap gözlenmediğinde ise test durdurulmalıdır.

1.1.8.2. Termal uyaran testleri

Termal uyaran testleri hem sıçanlarda hem de farelerde kullanılabilmektedir. Bu testler yapılırken ısı yoğunluğu kontrol altına alınmakta ve nosiseptif yanıtın 5 ila 10 s arasında gözlenmesi hedeflenmektedir. Kuyruk hareketleri, pençe geri çekme hareketleri gibi tepki görülür görülmez yanma riskini önlemek ve sınırlandırmak için daima bir kesme süresi tanımlanmaktadır (Le Bars vd., 2001).

1.1.8.2.1. Kuyruk çekme (Tail flick) ve Kuyruk daldırma (Tail immersiyon) testleri

Kuyruk daldırma testi, ağrının spinal olarak yönlendirilen süreçlerini ölçmek için sık tercih edilen bir yöntemdir ve sıcak plaka testi gibi diğer yöntemlerde olduğu gibi, sedasyondan etkilenmeyen ölçümlerin avantajına sahiptir. Kuyruk daldırma testi, bir termostat yardımıyla sabit ısıda tutulan bir su (tercihen 0 °C altında sıvı olarak kalabilen bir solüsyon) banyosuna hayvanın kuyruğunun daldırılmasından ibarettir. Kuyruğun sıcak suya daldırılmasının ardından birkaç saniye sonrasında kuyruğun bazen de tüm bedeninin çekilme refleksi ile sonlanmaktadır (Schmauss ve Yaksh, 1984; Ulugöl, 2009).

Kuyruk çekme (Tail flick testi-D'Armour & Smith testi) bilinen en eski nosiseptif testtir. Bu test ile ölçülen parametre ısı uyarıya karşı kuyruğun ani hareketi ve geçen sürenin ölçülmesidir. Deney hayvanının kuyruğu, altında fotosensör bulunan bir düzeneğe yerleştirir ve kuyruğun belirli bölgesine ışık ile ısı uygulanır. Hayvan ağrıyı hissettiğinde kuyruğunu çeker, düzenek fotosensör yardımıyla kapanır ve geçen süre kaydedilir.

Hayvanın kuyruğunu çekmesi bir omurga refleksidir, ağrı eşik süresini belirler ve spinal düzeyde bilgi verir (Millian, 2002). Isı uygulanan kuyrukta doku hasarı oluşmaması için ısı uygulama süresi 20 saniyeyi geçmemelidir (Le Bars vd., 2001).

1.1.8.2.2. Sıcak tabaka (Hot-plate) testi

Akut termal noisepsisyona göre bileşiklerin antinosiseptif etkinliğini belirlemek için kullanılan standart bir model olan sıcak plaka testinin deney modellerinde kullanımı ilk olarak Woolfe ve MacDonald tarafından tanımlanmıştır. 1953 yılında Eddy ve Leimback tarafından kullanılmış modifiye hali ise daha çok kullanılmaktadır. Deney düzeneği 50-56°C'ye kadar ısıtılabilen metal bir yüzey (bakır veya alüminyum) ve bu yüzey üzerine konulmuş, hayvanın belirli bir alan içinde kalmasını sağlarken hareketlerini kısıtlamayacak bir açık uçlu silindirden ibarettir. Silindir şeklindeki bir boşluğa deney hayvanının yerleştirilmesi ile başlamaktadır. Deney hayvanının termal uyarana karşı oluşturduğu cevabın zamanı kaydedilmektedir (Eddy ve Leimback, 1953; Langfor and Mogil, 2008).

Sıcak plaka testinde değerlendirilen parametre genellikle arka ayağını çekme, pençe yalama veya tekrarlanan ölçümlere izin veren ve gözlenen ilk cevabı kapsamaktadır (Barot, 2012). Hayvanların ağrılı uyarana algıladıklarında çeşitli değişik tepkiler (tekmeleme, sıçrama, dans etme gibi) vermeleri ve hangi davranışın ağrı belirtisi için kaydedileceği konusunda sorunlar olsa da sıcak plaka testi rodentlerin termal uyarımlara karşı ağrı eşliğinin değerlendirilmesinde halen en çok kullanılan *in vivo* analjezik yöntemlerden birisidir. Sıcak plaka testindeki cevaplar supraspinal düzeyde fikir vermektedir (Kartal ve Özyalçın, 2004). Doku hasarının olmaması için deneyin maksimum 30 saniyede tamamlanmalıdır (Aziz vd., 2019).

1.1.8.2.3. Soğuk uyaran (Cold plate) testi

Soğuk uyaran testleri, akut ağrı deneylerinde nadiren kullanılmaktadır. Sıcak plaka testinden farklı olarak deney düzeneğinde yer alan plaka 5 °C'ye ayarlanmaktadır. Arka pençeyi kaldırma veya yalama gibi hareketlerin zaman bağlı gecikmesi kaydedilmektedir. Hayvanlarının zarar görmemesi için deneyin sonlandırılması gerekli süre 30 sn'dir (Cuhumnei vd., 2017).

1.1.8.3. Mekanik uyarının kullanıldığı testler

1.1.8.3.1. Pençe çekme testi (paw withdrawal/ paw pressure test)

Mekanik uyaranlar ile ağrı eşliğinin belirlenmesinde kullanılır. Mekanik uyaran bir pedal aracılığıyla hayvanın pençesine artan basınçlarda uygulanır.

Deney havyanı ağrı eşiğinin el verdiği süre içerisinde ses çıkarmaya ve beraberinde pençe çekmeye başladığı an deney sonlandırılır. Akut ağrı deneyleri haricinde kronik ağrı, nöropatik ağrı ve inflamasyonun eşlik ettiği hiperaljezi deneylerinde de kullanılmaktadır. Pençe çekme testinin farklı zamanlarda uygulanmasıyla ağrılı uyarana duyarlılığın değişmesi, yanıtlarda bireysel farklılık gözlenmesine neden olabilmektedir.

1.1.8.3.2. Kuyruk sıkıştırma testi (Tail pinch/Tail clip test)

Temel prensibi kuyruk çekme (tail flick) testine benzemektedir. Deney hayvanının kuyruğuna bir klips aracılığıyla basınç uygulanması ve bu basıncın şiddetine bağlı klipse gösterilen tepkinin değerlendirmesi ile gerçekleştirilir. Farklı şiddette basınç uygulayan klipsler kullanılarak ağrı değerlendirilir veya belli bir basınç uygulayan klipse verilen yanıtın eşik/eşik üstü süresi tespit edilerek ağrı değerlendirilmektedir.

1.1.8.4. Kimyasal uyarının kullanıldığı testler

1.1.8.4.1. Karın germe/kıvrınma (Writhing) testi

Deneye temel oluşturan davranış kıvrınma olarak tanımlanan karın germe ve arka ayaklarda eksitasyon hareketlerinin görülmesidir. Kıvrınmayı refleks olarak oluşturan bu kimyasallardan en çok kullanılanlar para- benzokinon ve asetik asittir. Kıvrınma hareketi birkaç dakika içinde başlamakta ve 5-10 dakika arasında maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Kıvrınma hareketleri sayısal olarak kaydedilmekte ve kıvrınma sayısının azalması antinösetif etki olarak kabul edilmektedir. Periferik analjeziklerin, NSAİİ'lerin değerlendirilmesinde tercih edilmektedir (Erkeç ve Arıkan, 2014).

Deneyin sonlandırılması maksimum 30 dakika içerisinde tamamlanmaktadır. Zayıf analjezi potansiyeline sahip maddelerin etki gücünü tespit etmekte kullanılır. Bu yöntemin belirgin dezavantajı spesifik olmamasıdır, insanlarda analjezik etki göstermeyen ilaçlar bu testle etkili bulunabilir (Le Bars vd., 2001).

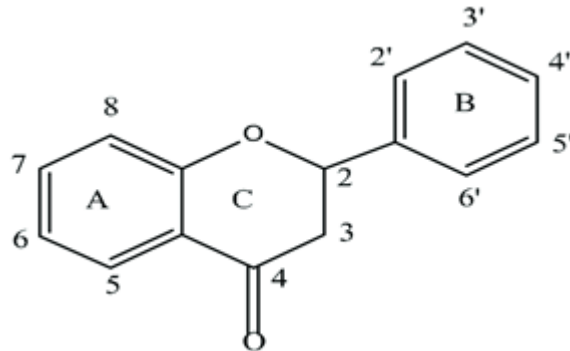
1.1.8.4.2. Formalin testi

Formalin esas olarak geçici reseptör potansiyel ankirin 1 (transient receptor potential ankirin 1-TRPA1 olarak bilinir) yoluyla etki eder (McNamara vd., 2007). Sık kullanılan bir yöntemdir. Formalin solüsyonu (%37) subkutan olarak (20-25 ml) arka ayakların dorsal veya plantar kısmına enjekte edilir.

Bu yöntem için gerekli hallerde enflamatuvar ağrıya sebep olan karragenin, serotonin, kaolin, platelet aktive edici faktör ve hardal yağı gibi maddeler de kullanılabilmektedir (Tjolsen vd., 1992). Enjeksiyondan sonra karşılaşılan en belirgin davranışlar hayvanın ayağını yalama ve ısırma hareketleridir. Formalin testine karşı verilen yanıtlar iki aşamada ortaya çıkar. Birinci (akut) faz enjeksiyonun hemen ardından başlar ve 5-10 dakikaya kadar devam eder. İkinci (tonik) faz ise enjeksiyondan 15 dakika sonra başlar ve 20-40 dk. kadar sürer. Birinci faz nosiseptörlerin doğrudan uyarılması ile ilgilidir ve lokal anesteziye duyarlıdır, ikinci faz dorsal boynuzdaki hem inflamatuvar mekanizmaları hem de merkezi duyarlılığı içerir. Bu modelin avantajı iki farklı tipte analjezik ajanın aynı çalışma içerisinde değerlendirilmesine mümkün kılmasıdır (Codere ve Melzack, 1992).

1.1.9. Flavonoidler

Flavonoidler uzun süredir varlığını sürdürmekte olan, çeşitli tıbbi tedavilerde kullanımları ve başarılı olmaları ile günümüze kadar gelmiş, geniş bir biyolojik aktivite çeşitliliğine sahip polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidlerin yapısındaki reaktif OH grupları, kolaylıkla glikozit bağı oluşturabilmektedir ve genellikle şekerlere bağlanmış halde bulunurlar (Cemreoğlu, 2004). Flavonoidlerin aglikon formlarına (şeker kısmını içermeyen form) ise daha az rastlanmaktadır (Crozier vd., 2000). Flavonoid aglikonunun farklı hidroksil gruplarına en az 8 ayrı monosakkarit veya bunların birleşmesi ile oluşan disakkaritlerin veya trisakkaritlerin bağlanması sonucu glikozit form meydana gelmektedir (Erlund, 2004).



Fenilkromon (2-benzopiron, flavon, difenolpropan)

Şekil 1.6. Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Eid vd., 2017)

Bilimsel toplulukların flavonoidlere ve türevlerine son zamanda artan ilgisinin, sayıları 4000'in üzerinde olan flavonoid bileşiğin varlığı ve bunların antioksidan, antienflamatuar, antiviral, antialerjik, antitrombotik, antimikrobiyal, antikanserojen, kardiyoprotektif vb. çeşitli biyolojik özelliklerinin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Hertog vd., 1993; Formica vd., 1995; Beecher vd., 1999; Kahraman vd., 2002). Memeli hücre sisteminde yapılan çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışmayla, flavonoidlerin sahip olduğu çeşitli biyolojik etkiler ortaya konmuştur. Son zamanlarda, lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikalleri aracılı antioksidan özellikleri oldukça dikkat çekici bulunmaktadır (Middleton vd., 1994).

1.1.9.1. Kersetin

En çok araştırılan diyet flavonoidlerinden biri olan Kersetin (C₁₅ H₁₀ O₇ daha spesifik olarak bir flavonoldur) domates, turuncgiller, üzüm, çilek, kiraz, elma, ahududu gibi meyvelerde, soğan, lahana, brokoli gibi çeşitli sebzelerde, çeşitli baharatlarda, karabuğday gibi baklagillerde, ayrıca siyah çay, kakao ve kırmızı şarapta bulunmaktadır (Mien ve Mohammed, 2001; Grawaltney-Brant, 2006; Johari vd., 2012). Kersetin ayrıca *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *St John's wort*, *Sambucus canadensis* (elder) gibi tıbbi bitkilerde ve bitkisel ilaçlarda da mevcuttur. Türkiye'de en yüksek oranda bulunan bitkiler selam otu ve kaparidir. Kersetin günümüzde, sıklıkla ilave besin takviyesi kabul edilen fitokimyasal bir ilaç olarak da kullanılmaktadır (Andres vd., 2018).

Kersetin antioksidan, antikanser, antitrombotik, antimikrobiyal, antiviral, antienflamatuar, antialerjik, antikolesterolemik, antihipertansif, antiobezite ve diğer pek çok biyolojik aktiviteye sahiptir. Yapılan araştırmalarda kersetinin ek klinik kullanımları arasında nörodejeneratif uygulamalar, gut, pankreatit ve prostatit gibi enflamatuar hastalıkların tedavisi bulunmakta ve çeşitli ağrı türlerindeki analjezik etkileri gösterilmektedir (Gryglewski vd., 1987; ElAttrar ve Virji, 1999; Lamson ve Brignall, 2000).

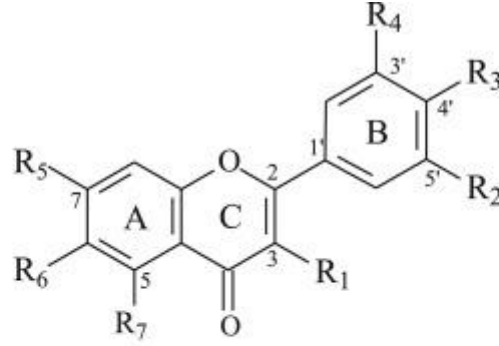
Kersetinin analjezik etkileri ilk olarak Rylski vd., (1979) ve daha sonra Picq vd., (1991) tarafından gösterilmiştir. Kersetinin analjezik etkisi fareler üzerinde yapılan deneysel sıcak plaka yöntemi ile ortaya konulmuştur (Rylski, Duriasz-Rowińska ve Rewerski, 1979). Farklı çalışmalarda kıvrınma testleriyle de kersetinin analjezik etkisi gösterilmiştir (Anjaneyulu ve Chopra, 2004).

Kersetinin, L-arginin, nitrik oksit, serotonin (özellikle 5-hidroksitriptamin tip 3-A reseptör aktivitesinin azaltılması), GABA-erjik ve opioid sitemler üzerine etkileriyle pro nosiseptif sitokinin üretimi ve inflamatuvar ağrıya eşlik eden serbest radikal oluşumunu inhibe ederek doza bağlı analjezik etki ürettiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Lee vd., 2005; Chunmei vd., 2017). Kersetinin doza bağlı analjezik etkisi çeşitli kimyasal (asetik asit, formalin, kapsaisin) ve termal nosisepsiyon deneyleriyle de ortaya konulmuştur (Filho vd., 2008). L-arginin ile sentezlenen nitrik oksit ile ilgili yolların kersetinin doza bağlı analjezik etki mekanizmasındaki rolü araştırmalarda gösterilse de daha fazla kanıtla desteklenmesi gereklidir. Ayrıca yapılan bazı araştırmalarda, delta-2-dopamin reseptörlerinin ve alfa-2-adrenoreseptörlerin kersetinin analjezik etkilerde rol oynadıklarını gösterilmiştir (Naidu vd., 2003). Bunların yanı sıra, incelenen araştırmalar sonucunda kersetinin, nörojenik ve enflamatuvar ağrılara karşı güçlü ve tutarlı analjezik etkiler gösterdiği de ortaya konulmuştur. Kersetinin kapsaisinin neden olduğu nörojenik ağrıya karşı güçlü antinosiseptif etkisi, formalin (birinci faz) ile oluşturulmuş deneysel modellerde (taşikinin yolu ile etkileşime girerek) etkili olabileceğini özellikle vurgulanmıştır (Kauer vd., 2005; Filho vd., 2008).

1.1.9.1.1. Kersetinin kimyasal özellikleri

Kersetin insan vücudunda üretilmeyen flavonoller sınıfında yer alır ve 1857 yılından bu yana kullanıldığı bilinmektedir. Kimyasal formülü 3,3', 4', 5,7-pentahidroksiflavon (bkz Şekil 1.7.) şeklindedir (Fischer vd., 1997).

Kersetin, genellikle bir veya daha fazla hidroksil grubunun farklı tipte şeker gruplarıyla değiştirildiği glikozit formunda bulunur. Kersetin türevlerinin ana grupları olan kersetin O- glikozit türevleri Şekil 1.7.' de özetlenmiştir. Sarı renktedir (Flavonoid sınıfı latince sarı anlamına gelen 'flavus' kelimesinden türemiştir ve bu gruptaki bileşikler için ortak bir renktir.), soğuk suda çözünmez ve sıcak suda zayıf çözünürlüğe (0,01mg/ml-25 °C) sahiptir. Kersetin lipofiliktir, etanol (4 mg/ml- 37 °C) ve dimetilsülfoksitte (150 mg/ml- 25 °C) ise daha yüksek oranda çözünürlüğe sahiptir (Lakhanpal and Rai, 2007; Gao vd., 2011).



Systematic name	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Quercetin	OH	OH	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 3- <i>O</i> -rhamnoside (quercitrin)	O-Rha	OH	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 3- <i>O</i> -rhamnosyl-(1 → 6)-glucoside (rutin)	O-RG	OH	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 3- <i>O</i> -glucoside (isoquercitrin)	O-Glu	OH	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 3- <i>O</i> -galactoside (Hyperoside)	O-Gal	OH	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 7- <i>O</i> -glucoside	OH	OH	OH	H	OH	H	O-Glu
Quercetin 3- <i>O</i> -rhamnoside-7- <i>O</i> -glucoside	O-Rha	OH	OH	O-Glu	OH	H	OH
Quercetin 6- <i>C</i> -glucoside	OH	OH	OH	H	OH	Glu	OH
Quercetin 3'-methyl ether (isohramnetin)	OH	O-Met	OH	H	OH	H	OH
Quercetin 7-methyl ether (rhamnetin)	OH	OH	OH	H	OH	H	O-Met
Quercetin 4'-methyl ether (tamarixetin)	OH	OH	O-Met	H	OH	H	OH

Gal: galactose; Glu: glucose; Rha: rhamnose; RG: rhamnosyl glucose; Met: methyl

Şekil 1.7. Kersetinin kimyasal yapısı ve glikozitleri (Wang vd., 2016).

1.1.9.1.2. Kersetinin emilimi, metabolizması ve biyoyararlanımı

Emilimi

Doğada bulunan pek çok flavonoid gibi kersetin de aglikon veya glikozit formu ile karşımıza çıkmaktadır. Flavonoid glikozitlerinin emilimi esnasında bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılarak aglikon forma dönüşmektedir. Bu sayede aglikonların hücre membranından geçişi serbestleşir. Flavonoidlerin emiliminden sonra glukuronitler, sülfatlar ve metillenmiş türevler gibi konjuge formlara dönüştükleri bilinmektedir.

Flavonoidlerin terapötik özellik göstermelerine bu konjugatların katkı sağladığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Viskupicova vd., 2008).

Kersetin absorpsiyonunda en çok flavonol halkasında bulunan şeker yapılarının özelliği ve etanol, yağ vb. çözücülerde değişebilen çözünürlükleri etkilidir. Yiyeceklerle alınan kersetin ağızda amilaz enzimiyle etkileşerek bir miktar çözünmekte ve kersetin-protein ikili agregatlarını oluşturmaktadır. Ancak ikili agregat oluşumunun kersetinin emilimini değiştirmede sadece bağırsakta emilim için serbestleşme sağladığı ortaya konulmuştur (Cai ve Bennick, 2006).

Gastrointestinal kanalda *Streptococcus faecium* ve *Escherichia coli* HGH21 gibi bakterilerin ürettiği beta-glukozidaz ve alfa-ramnozidaz enzimlerinin flavonoid glikozitleri parçaladığını bilinmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan araştırmalarda tanımlanmamış başka bakteri gruplarının da flavonoid glikozitlerinin parçalamasında rol oynayabileceği düşünülmektedir (Erlund, 2004). Kersetin midede hidroklorik asit (HCl) gibi güçlü asidik ortamda protokateşik asit gibi fenolik asitlere indirgenebilmektedir. Oluşan bu fenolik asitler ise midede emilebilmektedir (Wang vd., 2016). *In vivo* hayvan modellerinde, kersetinin aglikon absorpsiyonu, midede ve ince bağırsakta gerçekleşirken, izokeretin ve rutin glikozitlerinin mideden absorbe olmadığı gösterilmiştir (Crespy vd., 2002).

Bağırsakta emilimden önce, flavonoidlerin önce ağızda tükürük salgısıyla bitki dokusundan serbest bırakılması ve daha sonra bağırsaktaki sindirim suları veya kolondaki mikroorganizmalar tarafından işlenmesi gereklidir. Kersetin aglikonun gastrik absorpsiyonunu açıklayan mekanizmalar net olmasa da *in vitro* çalışmalar, kersetin aglikonun insan intestinal absorpsiyonunun pasif difüzyonla ve organik anyon taşıyan polipeptit (OATP) aracılığıyla meydana geldiğini göstermektedir (Chabane vd., 2009).

Kersetin glikozitlerinin emilimi için öncelikle enterositlerde bulunan sitozolik β -glukosidaz enzimleri (Laktaz Florhizin Hidrolaz-LFH) ile kersetin aglikona deglikozile edilmesi gereklidir (Zibera vd., 2014). Kersetin glikoziti ince bağırsakta hidrolizin ardından emilirken, kersetin rutinosit ise deglikozilasyonun ardından kolonda emilmektedir. Kersetin glikozitleri içeren yiyeceklerin tüketilmesinin ardından plazmadaki konsantrasyon düzeylerinin incelenmesi için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Plazmada kersetin ve kersetin konjugatlarının varlığına rastlanması emilimin hem kalın bağırsaktan hem de ince bağırsaktan gerçekleşebildiğini ortaya koymuştur (Jaganath vd., 2006).

Hollman vd., (2009) tarafından yapılan bir çalışmada ileostomili dokuz hastada kersetin flavonoidinin emilim derecesi incelenmiştir. Öncelikle araştırma katılımcılarına kersetin içermeyen 12 günlük bir diyet uygulanmıştır. Daha sonrasında ise kızartılmış soğan (kersetin glikozit), saf kersetin rutinozit (çayda bulunan) veya 100 mg saf kersetin aglikonu içeren 12 günlük diyetler uygulanmış ve rastgele gruplar oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, kersetin aglikonunun emiliminin %24, soğandaki kersetin glikozitlerin emiliminin ise %52 olduğu gösterilmiş, kersetinin şeker kısmının emilimi arttırdığı ortaya konulmuştur. Kersetin yapısında bulunan şeker formunun emilim üzerine etkisi araştırıldığı benzer bir çalışmada 9 gönüllü kişi tarafından glikozit ve rutinosisid bağına sahip kersetin içeren gıdalar tüketilmiş ve katılımcıların plazma kersetin miktarları ve emilim hızları incelenmiştir. Sonuçlarda glikozit bağlı kersetin formunun rutinosisid bağlı kersetin formuna göre emiliminin 10 kat daha hızlı şekilde gerçekleştiği ve biyoyararlılığının 20 kat fazla olduğu ortaya koyulmuştur. Bu çalışma ile de kersetinin içerdiği şeker bağının emilim üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir (Hollman vd., 2009).

Dağılımı

İnsanda oral kersetin alınımına bağlı doku dağılımı üzerine oldukça az araştırma mevcuttur. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda kersetin ve metabolitlerinin dokularda yaygın olarak bulunduğu gözlenmiştir; en yüksek konsantrasyon akciğerlerde, en düşük konsantrasyon beyin, beyaz yağ dokusu ve dalakta bulunmaktadır (Boer vd., 2005). Domuzlarda karaciğer, ince bağırsakta yüksek konsantrasyonda ancak beyin, kalp ve dalakta düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Bieger vd., 2008). Kersetin kısa süreli alımı sonucu plazma eşik konsantrasyonlarına ulaşamamaktadır. Yaklaşık 9 günlük süre boyunca tekrarlanan kersetin dozlarında ise plazma konsantrasyonunun pik seviyelerine (2317 nmol / L plazma) ulaştığı gösterilmiştir. Oral dozun %1,6 ila 4,6 arasında olduğu durumlarda ise dışkıda görülmektedir (Paulke vd., 2008).

Metabolizması ve Biyotransformasyonu

Kersetin metabolizması karmaşıktır. Metabolizasyonu enterosit ve hepatositlerde glukuronidasyon/glukozidasyon, sülfatasyon, metilasyon, asetilasyon deglikuronidasyon/deglikozilasyon vb. reaksiyonlar sonucu gerçekleşmektedir (Guo ve Bruno, 2015).

Biyotransformasyon sonrasında çeşitli kersetin metabolitleri ortaya çıkmaktadır. İnsan plazmasında en sık rastlanan metabolitler ise kersetin 3-O- β -D glukuronid (Q3GA) ve kersetin-3'-sülfat 'tır (Moon vd., 2001). Genel olarak, kersetin metabolizması üç fazdan oluşur: faz I modifikasyon, faz II konjugasyon ve faz III atılım 'dır (Omiecinski, 2011)

Faz I; genel olarak oksidasyon, hidroliz, hidrasyon, indirgenme vb. mekanizmaları içerir.

Faz II; kersetinin ince bağırsaktaki konjugasyonu glukuronidasyon, sülfatlama ve metilasyonu içermektedir. Bu reaksiyonlar sonucu kersetin monoglukuronid, kersetin diglukuronid, kersetin sülfat, kersetin monoglukuronid sülfat ve metillenmiş kersetin monoglukuronid sülfat gibi pek çok faz II metaboliti oluşmaktadır (Boer vd., 2005; Graf vd., 2006). Diğer metabolitleri ise, metillenmiş kersetin formları olan izorhamnetin ve tamarixetin'dir. Kersetin metabolitleri hepatik portal ven ve lenf dolaşımına geçmektedir. Portal ven aracılığıyla karaciğere taşınmaktadır (Art vd., 2004; Murato vd., 2013).

Faz 3; kersetin metabolitlerinin hepatositlere alımı, pasif difüzyonun yanı sıra organik anyon taşıyıcıları ile gerçekleşir. Karaciğere alımını takiben, kersetin metabolitleri, faz II konjugasyon enzimleriyle daha da metabolize edilir. Bununla birlikte, karaciğerde oluşan kersetin metabolitleri, dolaşımına girer, renal ya da safra boşaltımına yönlendirilir. Eliminasyon yarı ömrü ortalama 25 saattir (Arts vd., 2004). 2001 yılında yapılan bir çalışmada, idrar ve dışkı atılımında hesaba katılmayan kersetinin karbon dioksit (CO₂) şeklinde akciğerlerden atıldığı ortaya konulmuştur (Walle vd., 2001).

1.1.9.1.3. Kersetinin toksitesi

1951 yılında yapılan bir çalışmada kersetin için oral LD₅₀ değeri 160 mg/kg olarak belirlenmiştir. Ancak kullanılan kersetinin saflığına değinilmediği için bu verinin desteklenmesi gerekmektedir (Sullivan, Follis ve Hilgartner, 1951). İlerleyen yıllarda kersetinin toksik etkilerinin değerlendirildi hayvan çalışmalarında daha yüksek oral dozlarda tolere edilebildiği ortaya konulmuştur.

Kersetinin intravenöz uygulamasını içeren hayvan deneylerinde ise 100-150 mg/kg dozlarda yapılan uygulamanın toksik bir belirtiyeye sebep olmadığı gösterilmiştir (Ambrose, Robbins ve Deeds, 1952).

Hem erkek hem de dişi sıçanlarla yapılan bir çalışmada deney hayvanlarına 40-1900 mg/kg/gün doz aralığında kersetin uygulaması yapılmıştır. 6 ila 15 aylık periyotlarda yapılan tetslerde sağ kalım üzerine toksik bir etkisi görülmemiştir (Dunnick ve Hailey, 1992).

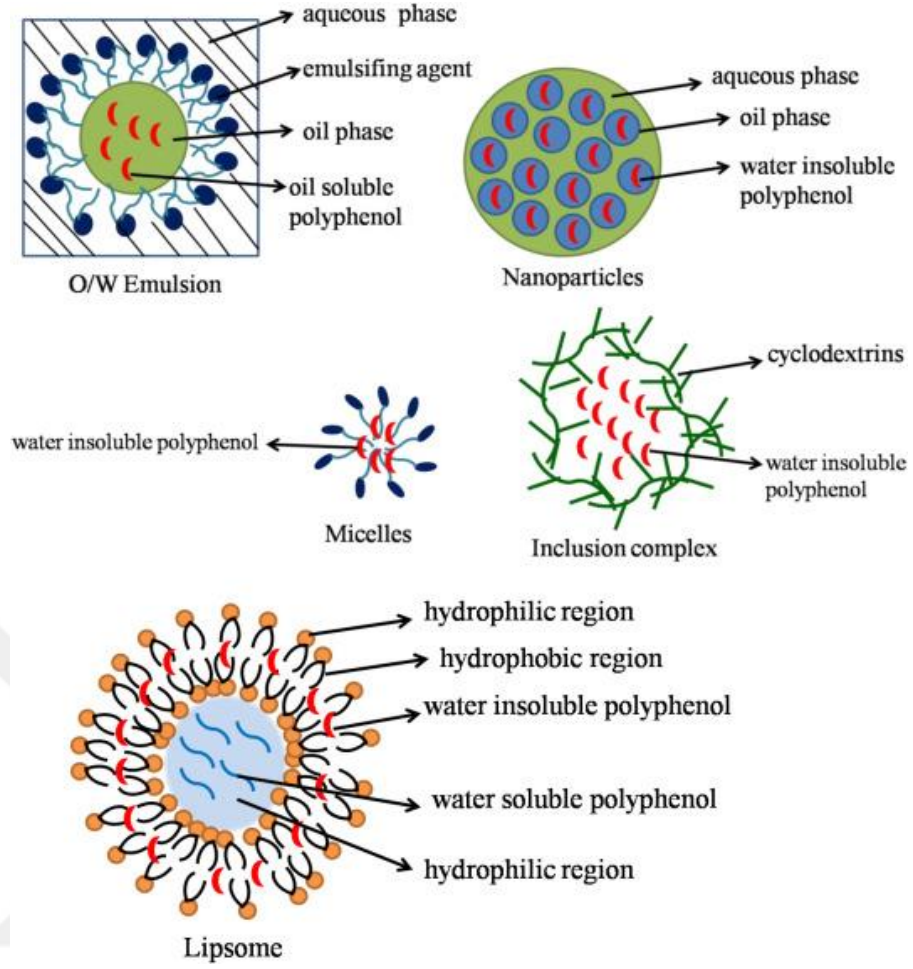
1.1.9.2. Kersetin için taşıma sistemleri

Kersetin bilindiği üzere, antioksidan, antienflamatuar, antiviral ve antikanser ayrıca kardiyoprotektif özellikleri bakımından popüler bir flavonoldür. Bununla birlikte, suda çözünürlüğü, kimyasal kararsızlığı ve kersetinin düşük biyoyararlanımı, sahip olduğu pek çok biyolojik etkinin sınırlandırılmasına neden olmaktadır. Farmasötik teknoloji ile geliştirilen çeşitli taşıyıcı sistemler (özellikle son on yılda) kullanılarak çözünürlüğü, stabilitesi, etkinliği ve biyoyararlanımı artırabilmektedir (McClements vd., 2010).

Günümüzde kullanılan ilaç taşıyıcı sistemler beş grupta sınıflandırılabilir.

- (i) lipit bazlı taşıyıcılar
- (ii) Polimer nanopartiküller
- (iii) inklüzyon kompleksleri
- (v) konjüge esaslı kapsülasyonlar

Bu taşıyıcı sistemlerin her biri bireysel faydalar sunmakla birlikte bireysel sınırlı kararlılık, organik çözücü kalıntıları, taşıyıcı sisteme yüklenebilecek etken madde miktarındaki sıkıntılar, maliyet sorunları gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Farklı taşıyıcı sistemler Şekil 1.8.'de şematik olarak gösterilmiştir. Kersetin için bu sistemlerinin avantajları ve dezavantajları Tablo 1.7.'de sunulmaktadır.



Şekil 1.8. Farklı kolloidal iletim sistemlerinin şematik gösterimi (Wang vd., 2016).

Tablo 1.7. Kersetin biyoyararlanımını arttırmak için farklı dağıtım sistemlerinin avantajları ve dezavantajları (Wang vd., 2016'dan derlenmiştir.)

Teslimat sistemleri		Avantajları	Dezavantajları
Katı nanoparçacıkları (KLN'ler)	lipit	İyi tolere edilebilirlik	Toplama potansiyeli
		Yüksek biyoyumluluk ve biyoyararlanım	Yeniden kristalleşme riski
Nano lipit taşıyıcıları (NLT'ler)		Kontrollü salınım	Kapsülasyondan dışlanma
		Oral, İv., pulmoner ve transdermal uygulama	
Nano emülsiyonlar (NE'ler)		Yüksek kapsülleme verimliliği	
		Yavaş bozunma hızı	
Lipozomlar		KLN'lerden daha küçük partikül boyutları	SLN'lere kıyasla biraz daha hızlı serbest bırakma
		Biyobozunur ve biyoyumluluk	
Biyopolimer parçacıklar		Yüksek kapsülleme yüklemesi	
		Yüksek termal stabilite	
İnklüzyon kompleksleri		Yüksek çözünürlük	
		Sürekli salım	
Misel		Yerçekimi ile ayırma ve birleştirme için kararlı sistem	Hızlı salım
		Küçük damlacık boyutu ve daha yüksek sıvı damlacık arayüz alanı	Gastrik durumda düşük stabilite
Eşlenik taşıyıcılar	tabanlı	Yüksek kapsülleme verimliliği	
		Yüksek absorpsiyon ve biyoyararlanım	
		Hem lipofilik hem de hidrofilik moleküller için taşıyıcılar	Asidik pH'da düşük kararlılık
		Toksik etkileri azaltabilir	Yüksek hammadde maliyeti
		Kontrollü salım	
		Isı, ışık, enzim, pH'a karşı koruma	
		Hedeflenebilirlik	
		Doğal içeriklerden hazırlama	Toplama ve çekimsel ayrılmaya karşı zayıf kararlılık
		Küçük boyut (10-1000 nm)	
		Asidik ve nötr pH'ya dayanıklılık	
		Etkili penetrasyon kabiliyeti	
		Uzun süreli salınım	
		Yüksek hücre geçirgenliği	Bozulma potansiyeli
		Termo-oksidatif kararlılık	Rekabetçi bileşiklerin varlığında ve polar çözücülerde kararlı değil
		Yüksek çözünürlük	
		Hızlı çözünürlük	
		Yüksek biyoyararlanımı	
		Güçlü antioksidan	
		Kontrollü salım	
		Küçük boyut (tipik olarak < 10 nm)	Sınırlı çözünürlük kapasitesi
		Termodinamik kararlılık	Yüksek miktarda yüzey aktif madde veya yüzey aktif madde
		Koloidal kararlılık	Formülasyon için istenmeyen tat
		Artan antioksidan etkinlik	Karmaşık hazırlama yöntemleri
		Yüzey aktif madde yok	pH'a duyarlı olma
		Yüksek yükleme kapasitesi	
		Güçlü antioksidan	
		Uzun kan dolaşımı	

1.1.9.2.1. Siklodekstrin

Siklodekstrinler, nişastanın basit fermantasyonu ile elde edilmektedirler. '*Klebsiella pneumoniae*' mikroorganizması içeren bir ortamdan siklodekstrin glukano transferaz (SGT) enzimi yardımı ile üretilmektedirler (Çelebi, 1987).

İlaç salım sistemleri arasında siklodekstrinler konuk ilaç moleküllerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirme, iyileştirme ve geliştirme yeteneklerinden dolayı potansiyel adaylar olarak kabul edilmiştir (Ahsan, 2001). Siklodekstrinler, hidrofobik bir merkezi boşluk ve bir hidrofilik dış yüzey içeren α -1,4 glikozidit bağlı glikopiranozun siklik oligosakaritleridir. Glikopiranoz birimlerini bağlayan bağların etrafında serbest dönüş olmadığından, siklodekstrinler tekdüze silindirik moleküller değildir, toroidal veya koniktirler. Moleküler yapılarının ve şekillerin mükemmel bir sonucu olarak, konuk molekülleri iç boşluklarında yakalayarak inklüzyon kompleksi (klarat bileşiği) oluştururlar ve moleküler ilaç taşıyıcı olarak davranırlar. Bu boşluk, apolar özelliği ile ilaç moleküllerin bağlanması için uygun bir bölge oluşturur (Tiwari, 2010). Oluşan bu kompleks konuk molekülün bazı fizikokimyasal özelliklerinin değişime uğramasına neden olmaktadır. Konuk molekülün çözünürlüğün artması, oksidasyon, ısı, ışık ve UV ışık gibi yıkıcı etkilerine karşı korunması, uçucu maddelerin buharlaşma hızlarının kontrol edilmesi ve uçuculuğun kontrolü, istenmeyen koku ve tatların maskelenmesi, istenmeyen bileşiklerin ortamdan uzaklaştırılması gibi özellikleri seçebilme imkânı oluşturmaktadır. Ayrıca sıvı haldeki maddelerin toz hale getirilmesine aracılık edebilmektedirler. Bu özellikleri sayesinde eczacılık, tarım, kozmetik, biyodönüşüm, kimya ve gıda alanlarında kullanılmaktadırlar (Sian vd., 2005).

Temel olarak siklodekstrinler üç gruba ayrılmaktadırlar. Bunlar; α -Siklodekstrin, β -Siklodekstrin ve γ -Siklodekstridir ve sırasıyla altı, yedi ve sekiz glikopiranoz üniteli siklik oligosakaritlerdir (Güleç, 2016). β -Siklodekstrin ilaç salım sistemleri için ideal kabul edilir çünkü ideal boşluk büyüklüğüne sahip ve ucuzdur (Karande 2009; Martinho 2011). Siklodekstrinler (özellikle hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD)), sülfobütiler- β -siklodekstrin (SBE- β -CD)) ilaç formülasyonlarına oral absorpsiyon artırmak için eklenmektedir (Loftsson vd., 1996).

Bu etki için β -siklodekstrinler ya intestinal membran yüzeyinde ilaçların permeabilitesini artırır ya da ilaç taşıyıcı sistem rolü üstlenerek ilaçların çözünürlüğünü artırır ve gastrointestinal sıvıda ilacın bozunmasına engel olurlar (Shaker vd., 2003). Aynı zamanda β -Siklodekstrin; biyoyararlanım artışı, stabilitenin iyileştirilmesi, iritasyonun azaltılması, uyumsuzluğun önlenmesi, koku ve tat maskeleyme gibi avantajlara sahiptir (Tiwari, 2010).

Bu çalışmada, Kersetin'in fizikokimyasal ve biyofarmasötik özelliklerini geliştirmek için β -Siklodekstrin-Kersetin kompleksi hazırlanmıştır. Kersetin'in β -Siklodekstrin kompleksi ile suda çözünürlüğü artırılması hedeflenmiştir. Böylece bu kompleksin saf Kersetin'e göre daha yüksek analjezik ve antiinflamatuar etki sağlayacağı düşünülmektedir.

1.9.2.1.1. Formülasyon hazırlama ve karakterizasyon

Kersetin içeren kompleks formüllerinin hazırlanması için kersetin ve siklodekstrin 1:1 molar oranda tartılmış ardından etanol:su (1:1, h/h) içinde çözündürülmüştür. Daha açık bir ifadeyle, kompleks formülasyonu için 10 mg Kersetin 32 mL etanol içinde çözündürülmüş, 37.58 mg β -CD 32 mL ultra saf su içinde çözündürülmüş bu iki çözelti karıştırılmıştır. Tamamen berrak çözelti elde edildikten sonra, çözelti balona alınmış ve çözücü sistem Büchi R-205 (Switzerland) evaporatör yardımıyla 50 °C, 100 milibar (mbar) koşulları altında sistemden uzaklaştırılmış ve katı kompleksler elde edilmiştir.

Katı komplekslerin karakterizasyonu için çözünürlük, parçacık boyutu, polidispersite indeksi, zeta potansiyel ve yükleme etkinliği çalışmaları yapılmıştır. Kersetinin distile su ortamındaki çözünürlük çalışması için deney tüpüne 5 mL distile su alınmış ve içerisine bir miktar kersetin konulup oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 15 dakika tutulmuştur. Buradaki amaç bu süre sonunda maddenin çözünmeden mevcut olması yani aşırı doymuş çözelti hazırlamaktır. Hazırlanan aşırı doymuş çözelti 0.22 μ m por aralığına sahip poliamid filtreden süzölmüş ve ultra viyole (UV) spektrofotometre ile analiz edilmiştir.

Siklodekstrin-kersetin kompleksin çözünürlük çalışması için cam deney tüpüne 5 mL ultra saf su konularak üzerine spatülle tartılan kersetin içeren kompleks eklendi. Ultrasonik banyoda ısı uygulamadan 15 dakika tutuldu. Buradaki amaç 15 dakika sonucunda aşırı doymuş çözelti elde etmektir. 15 dakika sonucunda alınan örnek 0.22 μ m por aralığına sahip poliamid filtreden süzöldü ve UV-spektrofotometre ile analiz edildi.

Parçacık boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyel analizleri için Zetasizer Nano ZS (Malvern, İngiltere) cihazı kullanılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda ağırlıkları 24-36 gram arasında değişen 100 adet Balb-c dişi fare kullanılmıştır. Deney hayvanları Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden temin edilmiştir. Fareler deneyler öncesinde 18–25 °C'de, iyi havalandırılmış ve 12 saat gece/gündüz aydınlatmalı odalarda barındırılmıştır. Kendi aralarında eşit sayılarda gruplandırılmış, beslenmeleri amacıyla standart yem pelletleri verilerek istedikleri kadar yem ve su tüketmelerine izin verilmiştir. Çalışmamız, Anadolu Üniversitesi Farmakoloji Anabilim dalı laboratuvarında sıcaklık ve nemi sabit bir ortamda, her gün 09.00- 16.00 saatleri arasında yapılmıştır. Çalışmanın etik kurul onayı 11.12.2019 tarihinde 2019-57 numaralı karar numarasıyla Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

2.2. Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar

Deneylerde çözücü olarak %10'luk dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Çalışmamızın ana inceleme ajanı olarak Sigma-Aldrich/ABD firmasından temin edilen Kersetin (3, 5, 10, 20 mg/kg) kullanılmıştır. İlaç taşıyıcı sistem olarak inklüzyon kompleksi oluşturulmuş ve β -siklodekstrin kullanılmıştır.

2.3. Yöntem

Yapacağımız deney için oluşturacağımız gruplar 8-10 hayvan ile tasarlandı. Deneyin ilk aşaması için oluşturduğumuz kontrol grubuna test maddesi ile aynı miktarda 0,2 ml dimetilsülfoksit (DMSO) intraperitoneal (i.p.) yoldan uygulandı. 0. Dakika (dk.), 30. dk., 60.dk., 120 dk. ve 180. dk.'larda hayvanların termal uyarana karşı verdiği tepkiler sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri ile belirlendi. İkinci aşamada kersetin uygulamaları tüm deney gruplarına intraperitoneal (i.p.) yoldan verildi.

Analjezi deneyleri için oluşturulan gruplara sırasıyla 3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 20 mg/kg dozlarda kersetin uygulandı. Aynı şekilde 0. dk., 30. dk., 60.dk., 120 dk. ve 180. dk.'larda termal uyaran testleri tekrarlandı.

Üçüncü aşamada siklodekstrin ile oluşturulmuş kersetin formülasyonu için ikinci aşamada olduğu gibi kersetin dozları uygulandı ve ölçümler kaydedildi. Akut ağrı mekanizmasının inceleneceği bu deneyde siklodekstrin yardımıyla stabilizasyonu iyileştirilmiş kersetin formülasyonlarının analjezik etkileri sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri ile karşılaştırıldı.

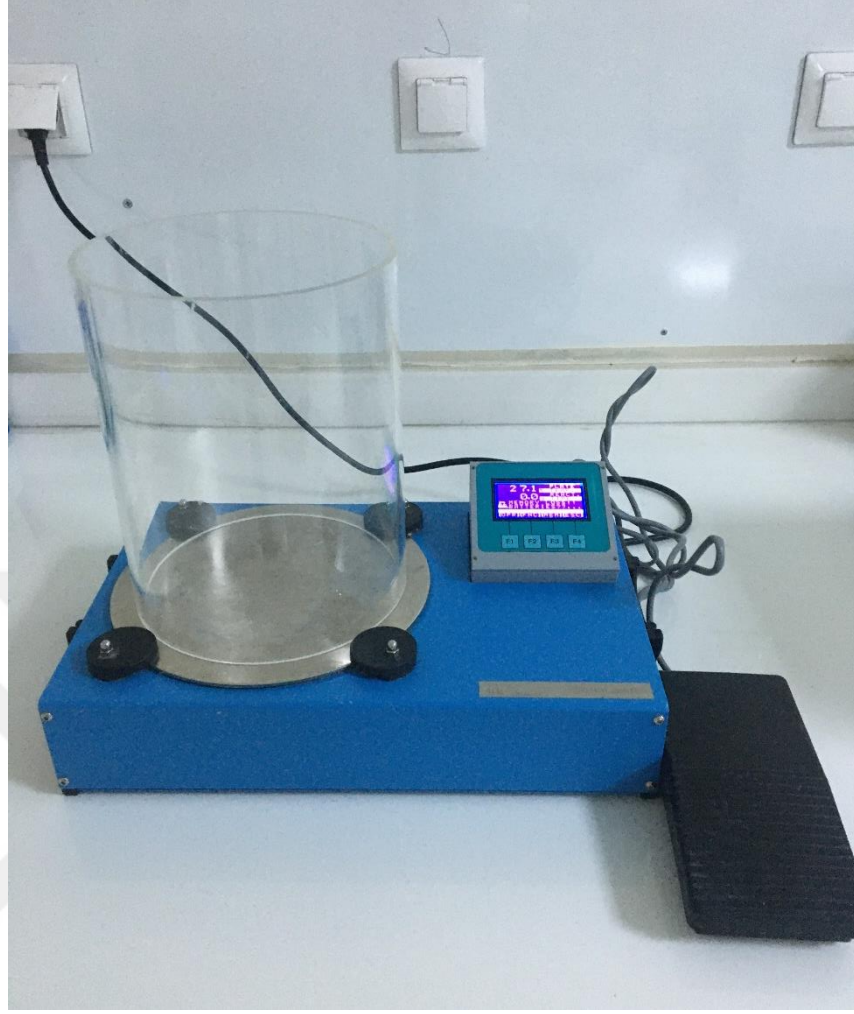
Tablo 2.1. Deney grupları

Deney ve kontrol grupları	Grup başına hayvan adedi	Tekrar sayısı(varsa)	Toplam sayı
1. Kontrol (çözücü)	10		10
2. Kersetin (3 mg/kg)	10		10
3. Kersetin (5 mg/kg)	10		10
4. Kersetin (10 mg/kg)	10		10
5. Kersetin (20 mg/kg)	10		10
6. Siklodekstrin + Kersetin (3 mg/kg)	10		10
7. Siklodekstrin + Kersetin (5 mg/kg)	10		10
8. Siklodekstrin + Kersetin (10 mg/kg)	10		10
9. Siklodekstrin + Kersetin (20 mg/kg)	10		10
10. Siklodekstrin	10		10
Toplam	100		100

2.4. Termal Hiperaleji

2.4.1. Sıcak plaka

Yapacağımız deney kapsamında etrafı pleksiglas, çıkarılabilir, silindirik bir çeperle sınırlandırılmış olan Ugo Basile (No:7280) ısı tablası kullanılarak ve 54,4-56 °C' ye kadar ısıtıldı (bkz. Görsel 2.1). Hayvanın sıcak zemine bırakılmış ve temas ettiği andan itibaren, arka ayaklarını çekme, yalama, bacakları üzerinde yükselme veya sıçrama hareketlerinden biri gözlemlendiğinde test sonlandırıldı ve geçen süre kronometre ile kaydedildi (Eddy ve Leimbach, 1953; Uzbay, 2004). Hayvanların ayaklarında sıcak zemin teması ile gerçekleşebilecek doku hasarının önlenmek için deneyin sonlandırılmasında üst sınır 20 sn olarak belirlendi (Ocak, 2014; Kılıç vd., 2006). Bu süre içinde teste yanıt vermeyen hayvanlar ısı tablasından uzaklaştırıldı.



Görsel 2.1. Deneyde kullandığımız sıcak plaka cihazı

2.4.2. Kuyruk daldırma testi

Nosiseptif tepkinin belirlenmesi için hayvanların kuyruklarının distal ucundan itibaren yaklaşık 3 cm'lik kısımları bir beher içerisinde bulunan 52,6 ° C'ye ısıtılmış su banyosuna daldırıldı. Hayvanların termal uyarıya karşı oluşturduğu yanıtın değerlendirilmesi ile deney sonlandırıldı. Hayvanın kuyruğunun suyun içine daldırıldığı andan itibaren, titretme hareketi veya suyun dışına doğru hızlıca çekme hareketine kadar geçen süre kronometre yardımıyla kaydedildi (Aydın vd., 2002; Gawel vd., 2018). Hayvanların kuyruk deri dokularının sıcaktan zarar görmesini engellemek için 15 sn'lik kesim süresi ile deney protokolü tamamlandı (Ramabadran vd., 1989; Aydın vd., 2002).



Görsel 2.2. Deneyde kullandığımız sıcak su banyosu

2.5. Verilerin İstatiksel Analizi

Araştırmamız kapsamında deney hayvanlarından elde edilen tüm veriler değerlendirilmiştir. Deneyimizde oluşturduğumuz kontrol grupları ile test maddesi uygulanan hayvanlar arasında gözlenen farklı deney verileri One-way ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Tukey çoklu karşılaştırma testi ve ayrıca unpaired t-test uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirmeye devam edilmiştir. Deney sonuçlarını oluşturan bütün verilerin istatistiksel analizleri GraphPad Prism version 5.0 istatistik programıyla elde edilmiştir. Sıcak tabaka ve kuyruk daldırma testlerinde elde edilen veriler ‘% maksimum olası etki’ formülünde yerine koyularak yüzde oranlar belirlenmiştir:

$$\% \text{ maksimum olası etki} = \frac{[\text{ilaç sonrası reaksiyon zamanı} - \text{ilaç öncesi reaksiyon zamanı}]}{[(\text{cut} - \text{off} = \text{test kesme süresi}) - \text{ilaç öncesi reaksiyon zamanı}]} \times 100 \quad (2.1)$$



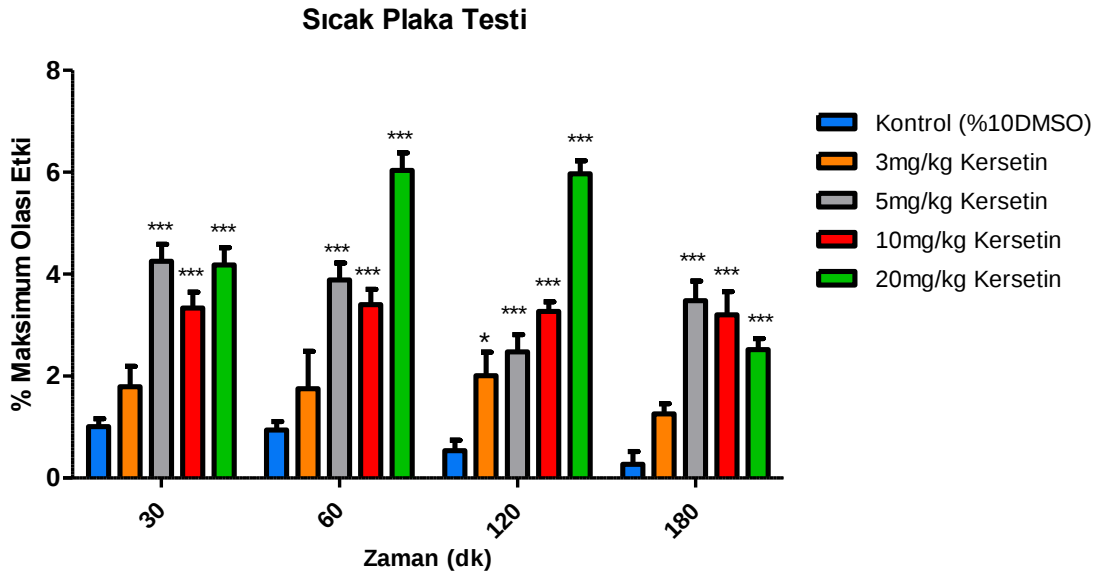
3. BULGULAR

3.1. Formülasyon Sonuçları

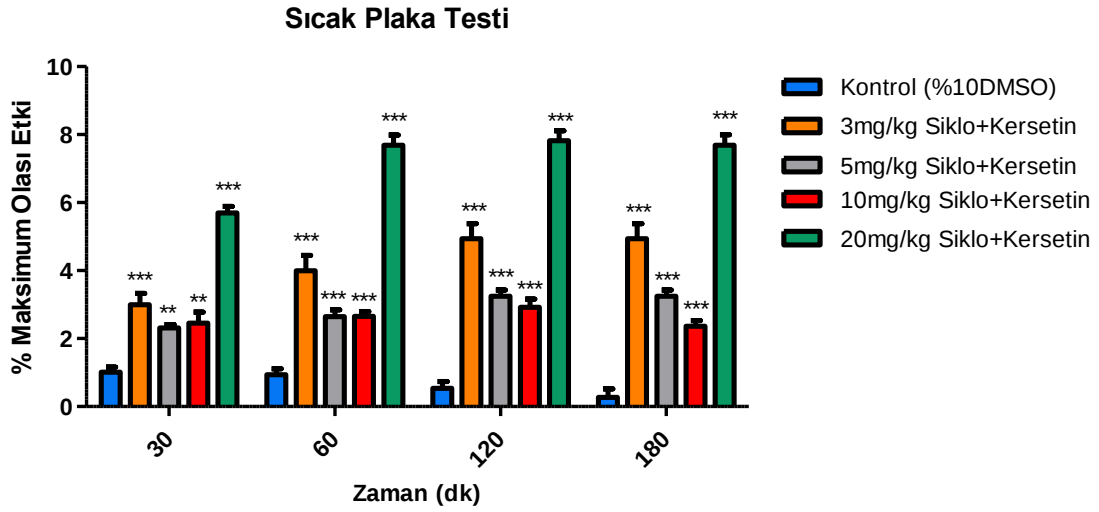
Yapılan deneyler ile kersetinin sudaki çözünürlüğü 1.37 µg/mL olarak bulunmuşken, kompleks içinde kersetinin sudaki çözünürlüğü 28.13 µg/mL olarak bulunmuştur. Hazırlanan kompleks sistemin parçacık büyüklüğü 551.167 ± 28.754 nm olup zeta potansiyel değeri -19.5 ± 0.2 olarak elde edilmiştir. Komplekslere kersetin yükleme oranı ise 82.17 ± 3.74 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, kersetinin *in vitro* koşullarda sudaki çözünürlüğünün arttırdığı kanıtlanmıştır.

3.2. Sıcak Plaka (Hot-Plate) Testi

Kersetinin ve Siklodekstrin-kersetin formülasyonunun zamana bağlı sıcak plaka testi sonuçlarının kontrol grubuna göre değerlendirilmiş oldukları grafikler şekil 3.1 ve 3.2’de verilmiştir. Uygulanan 5, 10 ve 20 mg/kg kersetin test edilen tüm zamanlarda kontrole göre anlamlı (** $p < 0.001$) olarak antinosiseptif etki göstermiştir. 3 mg/kg kersetin ise tüm zamanlarda göreceli olarak antinosiseptif etki göstermiştir. Siklodekstrin-kersetin kompleksi şeklinde oluşturulmuş formülasyonda da yine uygulanan tüm dozlarda anlamlı (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) antinosiseptif etki görülmüştür. Özellikle saf kersetinden farklı olarak siklodekstrin-kersetin formülasyonunun 3 mg/kg dozunda da tüm zamanlarda anlamlı etki görülmüştür (** $p < 0.001$).

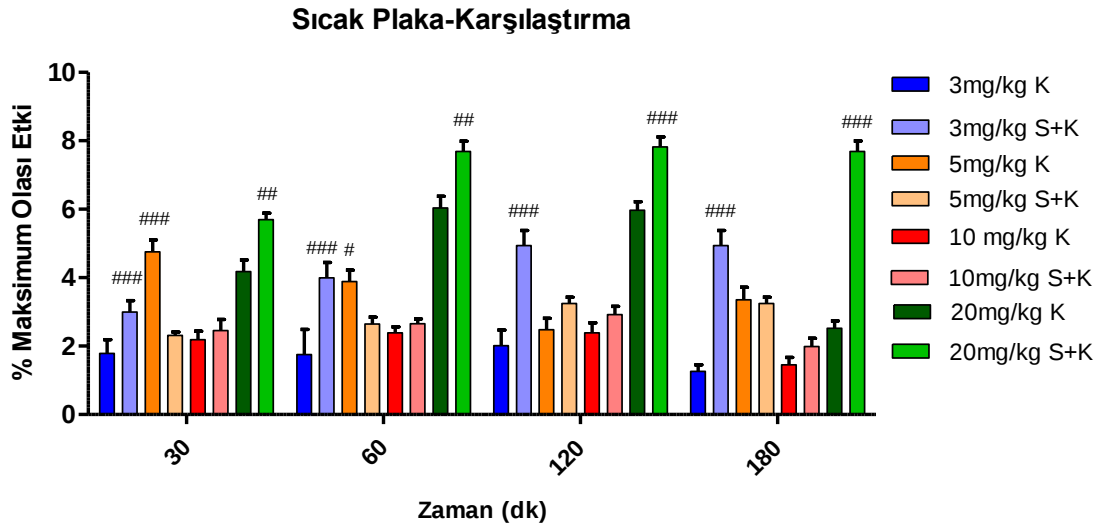


Şekil 3.1. Kersetin sıcak plaka testi. Sonuçlar ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. (n = 7-8).



Şekil 3.2. Siklodekstrin kersetin formülasyonu sıcak plaka testi. Sonuçlar ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. (n=7-8).

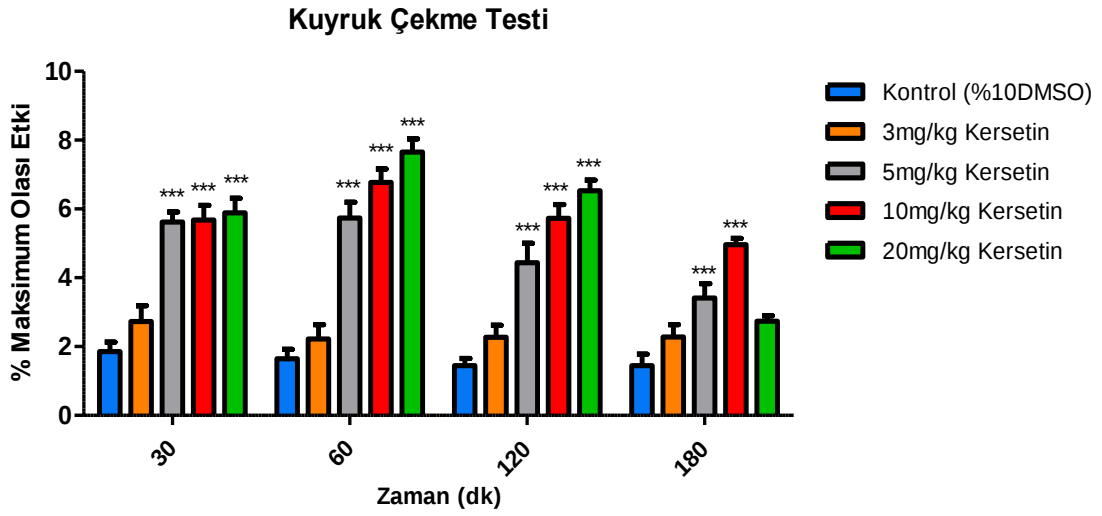
Şekil 3.3’de ise Kersetinin ve Siklodekstrin-kersetin formülasyonunun dozlarının birbiriyle antinosiseptif etkilerinin karşılaştırılması verilmiştir. 3 mg/kg dozda Siklodekstrin-kersetin formülasyonunun saf kersetine göre tüm zamanlarda daha anlamlı antinosiseptif etki gösterdiği belirlenmiştir. 5 mg/kg dozda ise saf kersetin 30. ve 60. dakikada Siklodekstrin-kersetin formülasyonuna göre daha anlamlı antinosiseptif etkisi olduğu belirlenmiş ancak, 120. ve 180. dakikalarda ise anlamlı bir fark görülmemektedir. 10 mg/kg dozda Siklodekstrin-kersetin formülasyonu ve saf kersetinin antinosiseptif etkisi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 20 mg/kg doz Siklodekstrin-kersetin formülasyonu ve saf kersetin antinosiseptif etkisi karşılaştırıldığında ise Siklodekstrin-kersetin formülasyonu tüm saatlerde saf kersetine göre anlamlı olduğu belirlenmiştir ($^{##}p<0.01$, $^{###}p<0.001$) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kersetin ve Siklodekstrin-Kersetin formülasyon uygulamasının sıcak plaka testinde karşılaştırılması. Kersetin ve Siklodekstrin kersetin formülasyonu arasında anlamlı fark: # $p<0.05$, ## $p<0.01$, ### $p<0.001$. K: Kersetin, S+K: Siklodekstrin-Kersetin, (n=7-8).

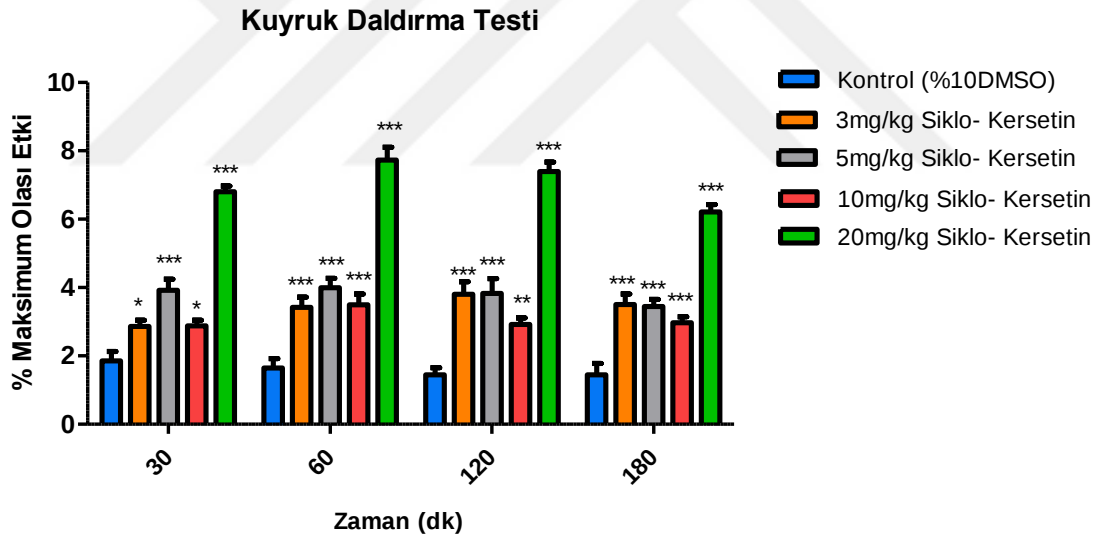
3.3. Kuyruk Daldırma (Tail immersion) Testi

3 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 20 mg/kg dozlarda uygulanan kersetin ve siklodekstrin-kersetin formülasyonunun zamana bağlı kuyruk daldırma testi verileri şekil 3.4 ve 3.5’de verilmiştir. 3 mg/kg kersetin dozu hariç test edilen tüm dozlarda 30., 60., 120., ve 180. dakikalarda kontrole göre anlamlı ($***p<0.001$) olarak antinosisieptif etki görülmüştür. Siklodekstrin-kersetin formülasyonu ise uygulanan tüm dozlarda kontrole karşılaştırıldığında anlamlı ($**p<0.01$, $***p<0.001$) antinosisieptif etki göstermiştir. Özellikle saf kersetinden farklı olarak 3 mg/kg dozda da tüm zamanlarda anlamlı etki görülmüştür ($***p<0.001$).



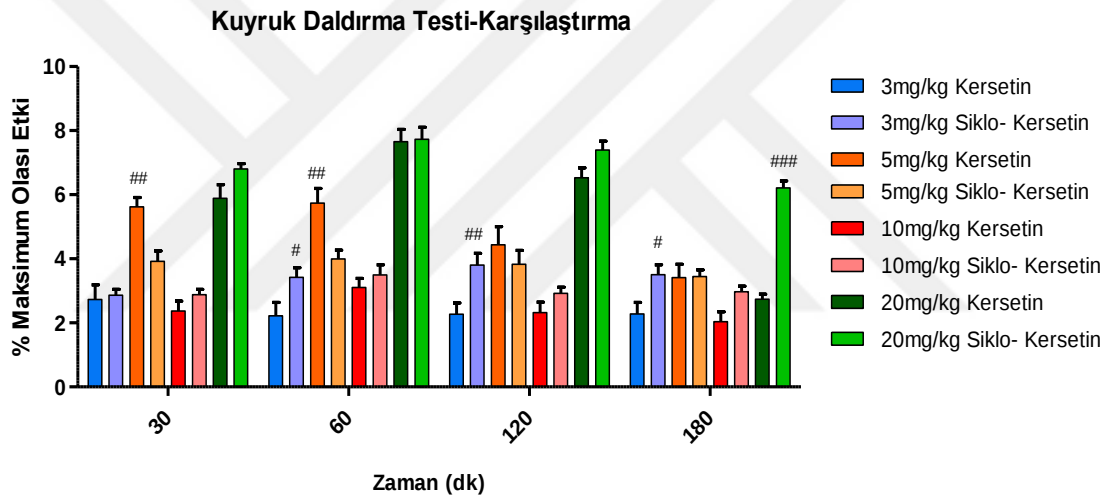
Şekil 3.4. Kersetin kuyruk daldırma testi. Sonuçlar ortalama $\pm$ SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark:

** $p<0.01$, *** $p<0.001$. (n=7-8).



Şekil 3.5. Siklodekstrin kersetin formülasyonu kuyruk daldırma testi. Sonuçlar ortalama $\pm$ SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. (n=7-8).

Kersetinin ve Siklodekstrin-kersetin formülasyon dozlarının antinosiseptif etkilerinin kuyruk daldırma testindeki karşılaştırmaları şekil 3.6’da verilmiştir. 3 mg/kg dozda Siklodekstrin-kersetin formülasyonu saf kersetine göre 30. dakika hariç daha anlamlı ($^{\#}p<0.05$, $^{##}p<0.01$) antinosiseptif etki gösterirken, 5 mg/kg dozda ise saf kersetinin 30. ve 60. dakikada siklodekstrin-kersetin formülasyonuna göre daha anlamlı ($^{##}p<0.01$) antinosiseptif etkisi olduğu belirlenmiştir. Siklodekstrin-kersetin formülasyonu ve saf kersetinin antinosiseptif etkisi arasında 10 mg/kg dozda anlamlı bir fark görülmemiştir. 20 mg/kg dozda 180. dakikada anlamlı fark ($^{###}p<0.001$) görülmekle birlikte 30. ve 120. dakikalarda ise siklodekstrin-kersetin formülasyonu saf kersetine göre görece daha anlamlı olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Kersetin ve Siklodekstrin-Kersetin formülasyon uygulamasının kuyruk daldırma testinde karşılaştırılması. Sonuçlar ortalama $\pm$ SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: $^{\ast}p<0.05$, $^{**}p<0.01$, $^{***}p<0.001$. K: Kersetin, S+K: Siklodekstrin-Kersetin, (n=7-8).

4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, analjezik etkisi olduğu bilinen kersetinin düşük dozlardaki santral analjezik aktivitesi zamana bağlı akut analjezi testleri ile gösterilmiştir. Aynı zamanda kersetin yüklü siklodekstrin formülasyonu oluşturularak düşük dozlarda gözlenen analjezik etki ve bu etkideki artış saf kersetin dozları ile karşılaştırılmıştır. Araştırmamıza temel oluşturan dozlardaki kersetin ve siklodekstrin-kersetin kompleksinin santral analjezik aktivitesi sıklıkla tercih edilen sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri ile ortaya konulmuştur. Sıcak plaka testi supraspinal mekanizmalarla kontrol edilen pençe yalama, bıyık hareketleri ve sıçrama vb. birbiriyle organize davranışların sergilendiği davranışsal bir nosisepsiyon modelidir. Kuyruk daldırma testi ise basit bir omurga refleksi olarak değerlendirilir ve spinal düzeyde veri sağlamaktadır (Savage ve Ma, 2015; Patel vd., 2016; Arslan vd., 2018). Siklodekstrin-kersetin kompleksinin, saf kersetine göre analjezik etkide ve etki süresinde meydana getirdiği artış gösterilmiştir.

Kersetin sahip olduğu pek çok biyolojik aktivitenin yanı sıra analjezik etkisi yapılan çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuş bir flavonoiddir (Rylski vd., 1979; Filho vd., 2008; Jafarova, 2019). Kersetinin, L-arginin, nitrik oksit, serotonin, GABA-erjik ve opioid sitemler üzerine etkileriyle pro-nosiseptif sitokinin üretimi ve inflamatuvar ağrıya eşlik eden serbest radikal oluşumunu inhibe ederek doza bağlı analjezik etki ürettiğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Lee vd., 2005; Chunmei vd., 2017). Kersetinin doza bağlı analjezik etkisi çeşitli analjezi deneyleriyle de ortaya konulmuştur (Filho vd., 2008; Jafarova, 2019). Bu çalışmalardaki verilerden yola çıkarak çalışmamızda kersetinin 3, 5, 10 ve 20 mg/kg dozlardaki analjezik etkisi araştırılmıştır. Kersetinin kanıtlanmış terapötik potansiyeline rağmen, suda çözünürlüğünün az olması, kimyasal karasızlığı, yüksek lipofilitesi, gastrointestinal emiliminin ihmal edilebilir düzeyde olması ve ilk geçiş metabolizasyonu gibi nedenlerle sahip olduğu pek çok biyolojik etkisini sınırlı olarak ortaya koyduğu belirtilmektedir (Gao vd., 2011; Wang vd., 2016). Kersetinin analjezik etkisinin ilaç taşıyıcı sistemlerinden yararlanarak oluşturulan formülasyon ile iyileştirilmesine çalışılmıştır. Özellikle son yıllarda farmasötik teknoloji ile geliştirilen çeşitli taşıyıcı sistemler kullanılarak ilaç etken maddelerinin çözünürlüğü, stabilitesi, etkinliği ve biyoyararlanımı artırabilmektedir (McClements vd., 2010).

Bu amaçla lipid ve polimerik nanopartiküller, lipozomlar, metalik ve inorganik bazlı nanopartiküller, nanoemülsiyonlar, ko-kristaller, miseller gibi çeşitli dağıtım sistemleri, inklüzyon kompleksleri, konjugat bazlı iletim sistemleri, nano yapıli lipid taşıyıcılar, mikroküreler ve katı dispersiyon gibi taşıyıcı sistemler çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını arttırmak için geliştirilmiştir (Khursheed vd., 2020). Öte yandan yapılan bir çalışmada propandiamin- β -siklodekstrin ile oluşturulan inklüzyon kompleksinin, kersetinin çözünürlüğü, stabilitesi ve antioksidan etkisini arttırmada kullanılmıştır (Yang vd., 2019). Çalışmamızda kersetin çözünürlüğü ve etkinliğini arttırmak amacıyla β -siklodekstrin kompleksi oluşturulmuştur. Çalışmamızda kullanılan kersetinin sudaki çözünürlüğü 1.37 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuşken, kompleks içinde kersetinin sudaki çözünürlüğü 28.13 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Araştırma sonuçlarımıza göre, β -siklodekstrin kompleksinin, kersetinin *in vitro* koşullarda sudaki çözünürlüğünü arttırdığı gösterilmiştir.

Sıcak plaka testinde kersetinin 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarında antinosiseptif etki görülürken, 3 mg/kg dozunda ise göreceli bir antinosiseptif etkiden bahsetmek mümkündür. Siklodekstrin-keretin kompleksi şeklinde oluşturulmuş formülasyonda ise saf kersetinde olduğu gibi 5, 10 ve 20 mg/kg olarak uygulanan dozlarda anlamlı antinosiseptif etki görülmüştür. Saf kersetinden farklı olarak siklodekstrin-keretin formülasyonunun özellikle 3 mg/kg dozunda da tüm testlerde anlamlı antinosiseptif etki belirlenmiştir ve bu etkinin 180. dakikaya kadar devam ettiği gözlenmiştir.

Kersetinin ve Siklodekstrin-keretin formülasyonuna ait dozlarının antinosiseptif etkileri birbiriyle karşılaştırıldığında 3 mg/kg dozda siklodekstrin-keretin formülasyonunun saf kersetine göre tüm zamanlarda daha anlamlı antinosiseptif etki gösterdiği ortaya konmuştur. 5 mg/kg dozda yapılan karşılaştırmada ise saf kersetinin 30. ve 60. dakikada siklodekstrin-keretin formülasyonuna göre daha anlamlı antinosiseptif etkisi olduğu belirlenmiştir. 120. dakikada 5 mg/kg dozda siklodekstrin-keretin formülasyonunun saf kersetine göre daha iyi antinosiseptif etki oluşturduğu gözlenmiştir. Ancak 120. ve 180. dakikalarda görülen etki anlamlı bir fark ifade etmemektedir. 10 mg/kg dozda siklodekstrin-keretin formülasyonu ve saf kersetinin antinosiseptif etkisi arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. 20 mg/kg dozda siklodekstrin-keretin formülasyonu ve saf kersetinin antinosiseptif etkisi karşılaştırıldığında ise siklodekstrin-keretin formülasyonu tüm saatlerde saf kersetine göre anlamlı antinosiseptif etki göstermiştir.

3, 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarda uygulanan saf kersetinin zamana bağılı kuyruk daldırma testinde 3 mg/kg kersetin dozu hariç test edilen tüm dozlarda 30., 60., 120. ve 180. dakikalarda kontrole göre anlamlı antinosisseptif etki görülmüştür. Siklodekstrin-kersetin formülasyonu ise uygulanan tüm dozlarda kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı antinosisseptif etki göstermiştir. Özellikle saf kersetinden farklı olarak 3 mg/kg dozda da tüm zamanlarda anlamlı etki görülmüştür. Diğer tüm dozlarda da siklodekstrin-kersetin formülasyonun antinosisseptif etkide bir artışa neden olduğu gözlenmektedir.

İlaç dağıtım sistemleri, gerekli miktarda ilacı, gerekli bir süre boyunca hem etkili hem de doğru bir şekilde, hedeflenen bölgeye ulaştırmak amacıyla tasarlanmaktadır. Gelişmiş dozaj formlarını tasarlamak ve ilaç moleküllerinin istenmeyen özelliklerinin iyileştirilebilmesi için uygun taşıyıcı malzemeler kullanılmaktadır. Bu taşıyıcı sistemlerden biri olan siklodekstrinler, hidrofilik bir dış yüzeye ve lipofilik bir merkezi boşluğa sahip bir siklik oligosakkarit ailesidir. Siklodekstrinler, esasen, az çözünür ilaçların sulu çözünürlüğünü arttırmak ve biyoyararlanımlarını ve stabilitelerini arttırmak için kompleks yapıcılar olarak kullanılmaktadırlar. Hem insanlarda hem de hayvanlarda yapılan çalışmalar, siklodekstrinlerin hemen hemen her tür ilaç formülasyonundan ilaç iletimini iyileştirmek için kullanılabileceğini göstermektedir (Uekama ve Otagiri,1987; Loftsson vd., 2005).

Siklodekstrinler, hidrofobik bir çekirdeğe ve hidrofilik dış kısma sahip olmaları ile hidrofobik enjekte edilebilir ilaçlar için suda çözünür ilaç taşıyıcıları olarak kullanılabilmektedir. Siklodekstrin kompleksleri yüksek çözündürme yetenekleri, zayıf hemolitik aktiviteleri ve yüksek biyolojik uyumlulukları nedeniyle enjeksiyonlar gibi parenteral preparatlar içinde yararlı olabildikleri belirtilmektedir. Örneğin, siklodekstrin kompleksi ile hazırlanmış ilaçların kas içine enjeksiyonunu takiben kas dokusu hasarını hafiflettiği bildirilmektedir. İlacın suda çözünürlüğünü, kimyasal stabilitesini arttırdığı ve potansiyel olarak enjeksiyon alanındaki tahrişi azalttığıda belirtilmektedir (Brewster, vd., 1989; Uekama, vd., 1998).

Tez kapsamında çalışmış olduğumuz siklodekstrin-kersetin kompleksi saf kersetine göre bize daha kolay bir çözünürlüğün ve uygulama kolaylığının yanısıra daha etkin bir analjezik etki ve daha uzun süre devam eden bir etki sağlamıştır. Kersetin gibi suda çözünürlüğü düşük bir maddenin daha rahat uygulanmasına olanak sağlamıştır. 3 mg/kg dozda etki görülmesinde yine siklodekstrin kompleksinin katkısının olduğu düşünülmüştür.

Bu çalışmamızın kersetin gibi etkili bioaktif bir flavonoidin ilaç olarak değerlendirilmesinde ve parenteral olarak uygulanabilmesinde öncül bir çalışma olacağı kanaatindeyiz.

Sonuç olarak, siklodekstrin-kersetinin farklı dozlarda analjezik etkisi ortaya konmuş ve hazırlanmış olduğumuz kompleks sayesinde uygulama kolaylığı geliştirilmiş ve kersetinin analjezik etkisinde artış sağlanmış olduğu söylenebilir. Çalışmamızın kersetinin bir ilaç olarak geliştirilmesine katkı sağlamasını ümit ediyoruz. Bunun yanı sıra diğer farklı taşıyıcı sistemlerin uygulanması ve geliştirilmesiyle kersetinin fiziko-kimyasal özelliklerini daha da iyileştirerek ilaç olarak geliştirmesine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Güvenilirlik, kararlılık ve etkinlik gibi ilaç geliştirme aşamalarında başarısızlıklar yaşayan kersetini farmasötik olarak kabul edilebilir bir dozaj formunda piyasaya sürmek için siklodekstrin/alternatif yaklaşımlar kullanılabilir.

KAYNAKÇA

- Ahsan, F., Arnold J.J., Meezan E., Pillion, D.J. (2001). Mutual inhibition of the insulin absorption-enhancing properties of dodecylmaltoside and dimethyl-beta-cyclodextrin following nasal administration. *Pharm Res.*, 18, 608-614.
- Aldemir, T. (2000). Akut ağrı fizyopatolojisi. S. Erdine (Editör). *Ağrı* (s. 111-119).
- Andres S., Pevny, S., Ziegenhagen, R., Bakhiya, N., Schäfer, B., Hirsch-Ernst, K.I and Lampen, A. (2018). Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(1), 1700447.
- Anjaneyulu, M. and Chopra, K. (2004). Quercetin attenuates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rats. *Indian J. Exp. Biol.*, 42(8), 766-769.
- Arslan R. ve Bektas, N. (2015). Evaluation of the Centrally-Acting Mechanisms of Some Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs. *Am. J. Pharm. Health Res.*, 3(6), 190-202.
- Arts, I.C., Sesink, A.L., Faassen-Peters, M., Hollman, P.C. (2004). The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. *Br. J. Nutr.*, 91, 841–847.
- Aydın, O. N. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *Adnan Menderes Üni.Tıp Fak. Der.*, 3(2), 37-48.
- Aziz, Z.A.A., Nasir H.M., Ahmed, A., Setapar, S. H. M., Ahmed, H., Noor, M.H., M., Rafatullah, M., Khatoon, A., Kausar, M.A., Ahmed, I., Khan, S., Al-Shaeri, M., Ashraf, G.M. (2019). Enrichment of Eucalyptus oil nanoemulsion by micellar nanotechnology: transdermal analgesic activity using hot plate test in rats' assay. *Scientific Reports*, 9(1), 1-16.
- Barrot, M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*, 211, 39-50.
- Beecher, G.R. Warden, B.A. Merken, H. (1999). Analysis of tea polyphenols. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 220, 267–270.
- Bennett, C.R. (1984). *Monheim's Local Anesthesia and Pain Control in Dental Practice*. (7th ed.). ABD: St. Louis, MO: C.V. Mosby.
- Bıçakçı, Ş., Sarıca, Y. (2006). Pain and related mechanisms. *Türkiye Klinikleri J. Int. Med. Sci.*, 2(5), 1-5.

- Bieger, J., Cermak, R., Blank, R., de Boer, V. C., Hollman, P. C., Kamphues, J., Wolfram, S. (2008). Tissue distribution of quercetin in pigs after long-term dietary supplementation. *JN*, 138(8), 1417-1420.
- Boer, V. C., Dihal, A. A., van der Woude, H., Arts, I. C., Wolfram, S., Alink, G. M., Hollman, P. C. (2005). Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *JN*, 135(7), 1718-1725.
- Brewster, M. E., Simpkins, J. W., Hora, M. S., Stern, W. C., & Bodor, N. (1989). The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations. *PDA J Pharm Sci Technol.*, 43(5), 231-240.
- Cai, K., Bennick, A. (2006). Effect of salivary proteins on the transport of tannin and quercetin across intestinal epithelial cells in culture. *Biochem. Pharm.*, 72, 974-980.
- Cemreoglu, B. (2004). *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*. (7. Baskı). Ankara: Bizim büro basımevi
- Chabane, M. N., Al Ahmad, A., Peluso, J., Muller, C., D Ubeaud, G. (2009). Quercetin and naringenin transport across human intestinal Caco-2 cells. *J. Pharm. Pharmacol.*, 61,1473–1483.
- Coderre, T.J. ve Melzack, R. (1992). The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J. Neuro.Sci.*, 12, (9), 3665-3670.
- Coşkun, Ö., Kanter, M., Korkmaz, A. ve Oter, Ş. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharm. Res.*, 51(2), Pages 117-123.
- Crespy, V., Morand, C., Besson, C., Manach, C., Demigne, C., Remesy, C. (2002). Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J. Agric. Food Chem.*, 50(3), 618-621.
- Crozier, A., Lean, M.E.J., McDonald, M.S., Black, C. (2000). Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 590-595.
- Çelebi, N. (1987). Siklodekstrinler 1: Özellikleri, Hazırlama Yöntemleri ve Klatrat Bileşikleri. *FABAD Farm. Bil. Der.*, 12, 5- 15.
- Diñçer, S., Erdine, S. (2013). Ağrı. M. Emre (Editör). *Nöroloji Temel Kitabı içinde* (1. baskı), (s.57-74). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.

- Dökmeci İ. (2007), *Farmakoloji: İlaçlar ve Etkileri*. (1. Baskı). İstanbul: Alfa Yayınları, 78.
- Eddy, N.B. ve Leimback, D. (1953). Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutenylamines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 107, 385-393.
- Eid, H. M., Wright, M. L., Anil Kumar, N. V., Qawasmeh, A., Hassan, S. T., Mocan, A., Haddad, P. S. (2017). Significance of microbiota in obesity and metabolic diseases and the modulatory potential by medicinal plant and food ingredients. *Front. Pharmacol.*, 8, 387.
- ElAttar, T.M. ve Virji, A.S. (1999). Modulating effect of resveratrol and quercetin on oral cancer cell growth and proliferation. *Anti-Cancer Drugs*, 10 (2), 187-193.
- Erdine S. (2007). *Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım*. (3. Baskı) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 37-49.
- Erdine, S. (2012). *Ağrınının Kitabı*. (1. Baskı). İstanbul: Hayykitap.
- Erkeç, Ö. ve Arıhan, O. (2014). Animal models in medical studies. *Int. J. Human Sci.*, 11(2), 50-63.
- Ertekin, C. (1987). *Nörolojide fizyopatoloji ve tedavi*. İzmir: Bilgehan Basımevi.
- Erlund, I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr. Res.*, 24, 851–874.
- Eti, Z. (2010). Ağrı Tedavisi. *J. Turkish Family. Physician.*, 1(2), 22-26.
- Filho, A.W., Filho, V.C., Olinger, L., de Souza, M.M. (2008). Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Arch. Pharm. Res.*, 31(6), 713-721.
- Fischer, C., Speth, V., Fleig-Eberenz, S., Neuhaus, G. (1997). Induction of zygotic polyembryos in wheat: influence of auxin polar transport, *Plant Cell*, 9, 1767–1780.
- Formica, J.V., Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.*, 33, 1061–1080.
- Gao, L., Liu, G., Wang, X., Liu, F., Xu, Y., Ma, J. (2011). Preparation of a chemically stable quercetin formulation using nanosuspension technology. *Inter. J. Pharm.*, 404(1-2), 231-237.

- Gawel, K., Jenda- Wojtanowska, M., Gibula-Bruzdaa, E., Kedzierskaa, E., Filarowskaa, J., Marszalek-Grabskaa, M., Wojtanowskic, K.K., Komstad, L., Talarek, S., Kotlinskaa, J.H. (2019). The influence of AMN082, metabotropic glutamate receptor 7 (mGlu7) allosteric agonist on the acute and chronic antinociceptive effects of morphine in the tail-immersion test in mice: Comparison with mGlu5 and mGlu2/3 ligands. *Phys. Beh.*, 185, 112-120.
- Gonzales, V.A., Martelli, M.F., Baker, J.M. (2000). Psychological assessment of persons with chronic pain. *NeuroReh.*, 14(2), 69-83.
- Grawaltney-Brant, S.M. (2016). Nutraceuticals in Renal Diseases. *Nutraceuticals*, 8, 101-108.
- Grond S. ve Sablotzki A. (2004). Clinical pharmacology of tramadol. *Clin. Pharmacokinet.*, 43, 879-923.
- Gryglewski, R.J., Korbut, R., Robak, J., Świąż, J. (1987). On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem. Pharm.*, 36 (3), 317-322.
- Guo, Y., Bruno, R.S. (2015). Endogenous and exogenous mediators of quercetin bioavailability. *J. Nutr. Biochem.* 26, 201–210.
- Güleç, K. ve Demirel, M. (2016). Characterization and Antioxidant Activity of Quercetin/Methyl- β -Cyclodextrin Complexes. *Cur. Drug Deliv.*, 13, 444-451.
- Hay, D. ve Nesbitt, V. (2019). Management of acute pain. *Surgery (Oxford)*, 37(8), 460-466.
- Heavner, J. (2005). Ağrı Mekanizması: Klinik Pratik İçin Bilimsel Temeller. S. Erdine (Editör). *Rejyonel Anestezi* (s.13-23), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hertog, M.G., Hollman, P.C., Katan, M.B., Kromhout, D. (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands, *Nutr. Cancer*, 20, 21–29.
- Hollman, P.C.H., Bijlsman M.N.C.P., Gameren, Y., Cnossen, E.P.J., Vries, J.H.M., Katan, M.B. (2009). The Sugar Moiety is a Major Determinant of the Absorption of Dietary Flavonoid Glycosides in Man. *Free Radical Res.*, 31(6), 569-573.
- Jafarova, Z. (2019). *Kersetinin analjezik etkisi, etki mekanizması ve farklı analjezik ilaçlarla sinerjistik etkileşimi*. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

- Jaganath, I.B., Mullen, W., Edwards, C.A., Crozier, A. (2006). The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. *Free Radic. Res.*, 40, 1035–1046.
- Jensen, T. S. ve Gottrup, H. (2003). Assesment of neuropathic pain. T.S., Jensen and P.R., Wilson and A.S., Rice (Editors), In *Clinical Pain Management: Chronic Pain (p.113-114)*. London: Arnold.
- Johari J., Kianmehr, A., Mustafa, M.R., Abubakar, S., Zandi, K. (2012). Antiviral activity of baicalein and quercetin against the Japanese encephalitis virus. *Int. J. Mol. Sci.*, 13, 16785–16795.
- Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T. (2002). Flavanoidler. *Kocatepe Tıp Der.*, 3, 01-08.
- Karande, P., Mitragotri, S. (2009). Enhancement of Trans- dermal Drug Delivery via Synergistic Action of Chemicals. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1788; 2362-2373.
- Kartal, F., Özyalçın, N.S. (2004). Hayvanlarda akut ve kronik ağrı modellerinin değerlendirilmesi. A. Önal (Editör), *Algoloji içinde* (s. 299-384). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Kayaalp., O. (2009). *Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (12.baskı). 2, 796-836.
- Kauer, R., Singh, D. ve Chopra, K. (2005). Participation of alpha2 receptors in the antinociceptive activity of quercetin. *J. Med. Food*, 4, 529-532.
- Khan, M.A., Raza, F., Khan, I.A. (2015). Pain: history, culture and philosophy. *Acta Med Hist. Adriat.*,13(1), 113-30.
- Khursheed, R., Singh, S.K., Wadhwa, S., Gulati, M., Awashti, A. (2020). Enhancing the potential preclinical and clinical benefits of quercetin through novel drug delivery systems. *Drug Disc. T.*, 25 (1), 209-222.
- Kelle, İ. (2006). Ağrı tedavisinde alternatif ilaçlar. *Dicle Tıp Der.*, 33 (3), 192-200.
- Kılıç, F.S., Sırmagül, B., Öner, S., Erol, K. (2006). Putative antinociceptive effect of alpha-tocopherol in mice. *The Pain Clinic.*, 18(1), 57-62.
- Loftsson, T., Jarho, P., Masson, M., & Järvinen, T. (2005). Cyclodextrins in drug delivery. *Expert opinion on drug delivery*, 2(2), 335-351.
- Lakhanpal, P ve Rai, D.K. (2007). Quercetin: A Versatile flavonoid. *Int. J. Med. Update.*, 2(2), 22–37.

- Lamson, D.W. ve Brignall, M.S. (2000). Antioxidants and cancer III: Quercetin. *A. Med. Rev.*, 5, (3), 196-208.
- Lamont, L.A., Tranouilli J.W., Grim K.A. (2000). Physiology of pain. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract*, 30(4), 703-728.
- Langford, D.J. ve Mogil, J.S. (2008). Pain Testing in the Laboratory Mouse. *American College of Laboratory Animal Medicine, Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals (Second Edition)*, 23, 549-560.
- Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacol Rev.*, 53, 597-652.
- Lee, B.H., Jeong, S.M., Lee, J.H., Kim, J.H., Yoon, I.S., Choi, S.H., Lee, S.M., Chang, C.G., Kim, H.C., Han, Y., Paik, H.D., Kim, Y. ve Nah, S.Y. (2005). Quercetin inhibits the 5-hydroxytryptamine type 3 receptor-mediated ion current by interacting with pre-transmembrane domain I. *Mol. Cells.*, 20, 60-73.
- Loftsson, T., Brewster, M.E. (1996). Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins 1. Drug Solubilization and Stabilization. *J. Pharm. Sci.*, 85, 1017-1025.
- Macintyre, P.E., Schug, S.A., Scott, D.A., Visser, E.J., Walker, S.M. (2015). *Acute Pain Management: Scientific Evidence*. (4. baskı). Working Group of the Australian and New Zealand College of Anaesthetists and Faculty of Pain Medicine. Melbourne: ANZCA & FPM, s. 94-103.
- N, Damgé C., Reis C.P. (2011). Recent Advances in Drug Delivery Systems. *J. Biomater. Nanobiotech.* 2, 510-526
- McClements, D.J. (2010). Design of nano-laminated coatings to control bioavailability of lipophilic food components. *J. Food Sci.*, 75, 30-42.
- McGann, K. (2007). The anatomy and physiology of pain. (1. Baskı). *In Fundamental Aspects of Pain Assessment and Management*, London: Mark Allen Publishing Ltd., s. 1-9.
- McNamara, C.R., Mandel-Brehm, J., Bautista, D.M., Siemens, J., Deranian, K.L., Zhao, M., Hayward, N.J., Chong, J.A., Julius, D., Moran, A.A., Fanger, C.M. (2007). TRPA1 aracılık eden formalinin neden olduğu ağrı. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, 13525 – 13530.
- McNicol, E.D., Ferguson, M.C., Hudcova, J. (2015). Patient controlled opioid analgesia versus non-patient controlled opioid analgesia for postoperative pain. *Cochrane Database Syst. Rev.*, Issue Art. No: CD003348.

- Melli, M., Kayaalp, S.O. (2009). Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar. S. O. Kayaalp (Editör), *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (12. baskı). Ankara: Pelikan Yayıncılık, s.837-870
- Melzack, R., Wall, P.D. (1965). Pain mechanism: a new theory. *Science*, 150, 971-979.
- Merskey, H., Albe-Fessard, D.G., Bonica, J.J., Carmen, A., Dubner, R., Kerr, F.W.L., Lindblom, U., Mumford, J.M., Nathan, P.W., Noordenbos, W., Pagni, C.A., Renaer, M.J., Sternbach, R.A., Sunderland, S. (1979). IASP sub-committee on taxonomy. *Pain* 6(3), 249–52.
- Middleton, E., Kandaswami, C. (1994). The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation and cancer. J. B. Harborne (Editor), *The flavonoids: Advances in research since 1986* (s 619-652). London: Chapman & Hall.
- Miean, K.H., Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (6), 3106-3112.
- Miller-Keane, M. (2003). *Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health* (7th ed.). Philadelphia, PA: Saunders, An Imprint of Elsevier
- Moon, J., Tsushida, T., Nakahara, K., Terao, J. (2001). Identification of quercetin 3-O- β -Dglucuronide an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. *Free Radic. Biol. Med.*, 30, 1274–1285.
- Murota, K., Cermak, R., Terao, J., Wolfram, S. (2013). Influence of fatty acid patterns on the intestinal absorption pathway of quercetin in thoracic lymph duct-cannulated rats. *Br. J. Nutr.*, 109, 2147–2153.
- Naidu, P. S., Singh, A., Kulkarni, S. K. (2003). D2-dopamine receptor and α 2-adrenoreceptor-mediated analgesic response of quercetin. *Indian J. Exp. Biol.*, 41, 1400-1404.
- Ng, L. ve Cashman, J. (2018). The management of acute pain. *Medicine*, 46(12), 780-785.
- Nicholson B. (2006). Differential diagnosis: nociceptive and neuropathic pain. *Am J Manag. Care*, 12(9), 256-62.

- Ocak, U.M. (2014). *Deneyisel ağrı modellerinde atorvastatinin antinosiseptif etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ref No: 10055269.
- Omiecinski, C.J., Vanden Heuvel, J.P., Perdew, G.H., Peters, J.M. (2011). Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. *Toxicol. Sci.* 120, 49–75.
- Ökten, A.İ. (2016). Ağrı ve Sanat. *Türk Nöroşiruji Dergisi*, 26 (1), 1-4.
- Patt R. B. (2002). Cancer Pain Management. C. D. Tollison, J. R. Satterthwaite and J. W. Tollison (Editörler), *Practical Pain Management* in (s. 597-635). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Patel, P. K., Sahu, J., Chandel, S. S. (2016). A detailed review on nociceptive models for the screening of analgesic activity in experimental animals. *J. Neurol. Phys. Ther.*, 2, 44-50.
- Paulke, A., Nöldner, M., Schubert-Zsilavecz, M., Wurglics, M. (2008). St. John's wort flavonoids and their metabolites show antidepressant activity and accumulate in brain after multiple oral doses. *Die Pharmazie-An Inter. J. Pharm. Sci.*, 63(4), 296-302.
- Ramabadran, K., Bansinath, M., Turndorf, H., Puing, M.M. (1989). The hyperalgesic effect of naloxone is attenuated in streptozotocin-diabetic mice. *Psychopharm.* 97, 169-174.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., (2012). Chemical mediators. G. Henderson (Editors), *Rang and Dale's Pharmacology* (s. 143-153). Edinburg, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto: Elsevier Churchill Livingstone.
- Rylski, M., Duriasz-Rowińska, H., & Rewerski, W. (1979). The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test. *Acta Physiol. Pol.*, 30(3), 385-388.
- Savage, S., & Ma, D. (2015). Experimental behaviour testing: pain. *Br. J. Anaesth.*, 114 (5), 721–724.
- Schmauss, C. ve Yaksh, T.L. (1984). In vivo studies on spinal receptor systems mediating antinociception II. Pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 228, 1–12.

- Shaker, D.S., Ghanem, A.H., Li, S.K., Warner, K.S., Hashem, F.M., Higuchi, W.I. (2003). Mechanistic Studies of The Effect of Hydroxypropyl-BetaCyclodextrin on In Vitro Transdermal Permeation of Corticosterone Through Hairless Mouse Skin. *Inter. J. Pharm.*, 253, 1-11.
- Sian, H.K., Said, M., Hassan, O., Kamaruddin, K., Ismail, A.F., Rahman, R.A., Mahmood, N.A.N., Illias, M.R. (2005). Purification and characterization of cyclodextrin glucanotransferase from alkalophilic *Bacillus* sp. G1. *Proc. Biochem.*, 40 (3-4), 1101-1111.
- Sorkin, L.S. (1997). Basic pharmacology and physiology of acute pain processing. M.S., Wallace, J.S., Dunn, T.L., Yaksh (Editors), In *Anesthesiology Clinics of North America* (s. 235-250). Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Soykan, A. ve Kumbasar, H. (1999). Kronik Ağrı Tedavisinde Psikiyatrik Yaklaşımlar. *J. Clin. Psy.*, 2(2), 109-116.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Rai, A.K. (2010). Cyclodextrins in delivery systems: Applications. *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 2(2), 72-79.
- Tjolsen, A., Berge, O.G, Hunskaar, S., Rosland, J.H., Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51, 5-17.
- Treede, R.D., Jensen, T.S., Campbell, J.N., Cruccu, G., Dostrovsky, J.O., Griffin, J.W., Hansson, P., Hughes, R., Nurmikko, T., Serra, J. (2008). Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neuro.* 70, 1630-1635.
- Türkoğlu, M. (1993). Ağrının tanımlanması ve ölçümü. (s.19-27). *Ağrı ve tedavisi*. İzmir.
- Uekama K, Otagiri M. (1987). Cyclodextrins in drug carrier systems. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.*, 3(1),1-40
- Uekama, K., Hirayama, F., Irie, T. (1998). Cyclodextrin drug carrier systems. *Chemical rev.*, 98(5), 2045-2076.
- Ulugöl, A. (2009). 20. Nöropatik ağrı hayvan modelleri. *Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Özet Kitabı*. Antalya, s. 100-102.
- Uzbay, İ.T. (2004). *Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri*. Ankara: Çizgi Tıp Yayınevi, Ankara, s. 139-144.
- Vecchio, A., De Pascalis, V. (2020). Approach and avoidance personality traits in acute pain and placebo analgesia. *Personality and Individual Differences*, 109830.

- Walle, T., Walle, U.K., Halushka, P.V. (2001). Carbon dioxide is the major metabolite of quercetin in humans. *J. Nutr.*, 131, 2648–2652.
- Wang, W., Sun, C., Mao, L., Ma, P., Liu, F., Yang, J., Gao, Y. (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin. *Trends in Food Sci. & Tech.*, 56, 21-38.
- Wells, B., G., DiPiro, J.P., Schwinghammer, T.L., DiPiro, C.V. (2015). *Pharmacotherapy Handbook*. (Ninth edition). USA: Mc-Graw Hill Education.
- Woolf, C.J., Chong, M. (1993). Preemptive analgesia Treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization. *Anesth Analg.*, 77, 362-79.
- Yang, S.-L., Zhao, L.-J., Chi, S.-M., Duo, J.-J., Ruan, Q., Xiao, P.-L., Zhao, Y. (2019). Inclusion complexes of flavonoids with propylenediamine modified β -cyclodextrin: Preparation, characterization and antioxidant. *J. Mol. Struct.*, 1183, 118-125.
- Yılmaz, A., Ergin, S. (2006). Ağrı: Periferik ve santral sensitizasyon. *Arch. Rheum.*, 21(3), 105-110.
- Zarghi, A. ve Arfaei, S. (2011). Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationships. *Iranian J. Pharm. Res.*, 10 (4), 655-683.
- Zibera, L., Fornasaro, S., Čvorović, J., Tramer, F., Passamonti, S. (2014). *Bioavailability of flavonoids: The role of cell membrane transporters*. R.R. Watson, V.R. Preedy, S. Zibadi (Editors.). *Polyphenols in human health and disease* (s. 489-511), Cambridge: Academic Press
- http-1: http://fizyoaktif.com.tr/?page_id=501#about (Son Erişim Tarihi: 29.07.2020)
- http-2: <http://www.who.int/cancer/palliative/painladder/en/> (Son Erişim Tarihi 20.01.2020).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Özge ÖZCAN

Yabancı Dil: İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı: Kütahya/13.11.1991

E-Posta: ozge.ozcan@anadolu.edu.tr

ORCID NO: <https://orcid.org/0000-0001-6624-5439>

Eğitim ve Mesleki Geçmişi

- 2014, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
- 2018, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı (devam ediyor)
- 2016-2020 Parkhayat Sağlık Grubu (devam ediyor)