

SEROTONERJİK VE NORADRENERJİK MODÜLASYONUN ROSMARINİK ASİT ANALJEZİSİNE KATKISI*
THE PARTICIPATION OF SEROTONERGIC AND NORADRENERGIC MODULATION IN ROSMARINIC
ACID-INDUCED ANALGESIA

Duygu AYDIN¹, Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN², Rana ARSLAN²

¹Yunus Emre Devlet Hastanesi, Eskişehir

²Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

ÖZ

Bu çalışmada, 0,3, 1 ve 3 mg/kg (*p.o.*) rosmarinik asitin farelerde santral analjezik etkinliğinin sıcak-plaka ve kuyruk-batırma testleri, periferik analjezik etkinliğinin ise asetik asit ile indüklenen kıvranma-testi ile değerlendirilmesi planlanmıştır. Ayrıca bu etkinliğe 5HT_{2A/2C} reseptör antagonisti ketanserin (1 mg/kg, *i.p.*) kullanılarak serotonerjik ve α_2 -adrenerjik antagonisti yohimbin (1 mg/kg, *i.p.*) kullanılarak noradrenerjik modülasyonun katkısının araştırılması amaçlanmıştır. Sıcak-plaka testinde 1 mg/kg rosmarinik asit 45. dakikada, 3 mg/kg rosmarinik asit ise 30., 45. ve 60. dakikada, kuyruk-batırma testinde 1 ve 3 mg/kg rosmarinik asit 45 ve 60. dakikada termal uyarana karşı verilen cevabının süresini uzatmıştır. Kıvranma-testinde ise, 45. dakikada uygulanan rosmarinik asit tüm dozlarda kıvranma sayılarını anlamlı olarak azaltmıştır. Ketanserinin, rosmarinik asitin oluşturduğu etkiyi sıcak-plaka ve kıvranma-testinde değiştirmemiş, kuyruk-batırma testinde ise anlamlı olarak geri çevirmiştir. Yohimbin, rosmarinik asitin oluşturduğu etkiyi sıcak-plaka testinde göreceli olarak, kuyruk-batırma ve kıvranma-testinde ise anlamlı olarak geri çevirmiştir. Rosmarinik asit hem inisiyör olarak yer alan serotonerjik ve noradrenerjik sistemi değişik düzeylerde modüle ederek, hem de periferik noradrenerjik sistemi stimüle ederek santral ve periferik analjezik etki sağlamaktadır. Sonuç olarak, ağrının eşlik ettiği rahatsızlıklarda yardımcı ilaç olarak kullanılabilir doğal bir ilaç adaydır.

Anahtar kelimeler: Rosmarinik asit, ağrı, serotonin, noradrenalin.

ABSTRACT

It was aimed to evaluate the central analgesic activity of 0.3, 1 and 3 mg/kg (*p.o.*) rosmarinic acid in mice by hot-plate and tail-immersion tests in a time dependent manner and the peripheral analgesic activity by acetic acid-induced writhing-test. Furthermore one of the other purpose of the study is to research the involvement of serotonergic and noradrenergic modulation on rosmarinic acid-induced analgesia by using 1 mg/kg (*i.p.*) ketanserine, 5HT_{2A/2C} receptor antagonist, and yohimbine, α_2 -adrenoceptor antagonist, respectively. The enhanced withdrawal responses to thermal stimuli were observed 45 minutes after the administration of 1 mg/kg rosmarinic acid; 30, 45 and 60 minutes after the administration of 3 mg/kg rosmarinic acid in hot-plate test; 45 and 60 minutes after the administration of 1 and 3 mg/kg rosmarinic acid in tail-immersion test. In writhing-test, the number of writhing significantly decreased 45 minutes after the administration of 0.3, 1 and 3 mg/kg rosmarinic acid. Rosmarinic acid-induced antinociception was significantly reversed by ketanserine only in tail-immersion test while it was reversed significantly in both tail-immersion and writhing-test by yohimbine. Rosmarinic acid provides analgesic effects by modulating serotonergic and noradrenergic systems that are located in descending inhibitory pathway and by stimulating peripheral noradrenergic system. Therefore, rosmarinic acid is a natural agent that can be used safely as a co-adjutant in pain management.

Keywords: Rosmarinic acid, pain, serotonin, noradrenalin.

*Bu çalışmanın bir kısmı Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 1305S106).

Makale Geliş Tarihi : 10.05.2016
Makale Kabul Tarihi: 17.03.2017

Corresponding Author: Yard. Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN
Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir
Telefon: +902223350580-3745
Faks:+902223350750
e-mail: nurcanebektas@anadolu.edu.tr

GİRİŞ

Ağrının hafifletilmesi için birçok ilaç bulunmasına rağmen çoğu hasta mevcut ilaçların çeşitli yan etki ve tolerabilite problemlerinden dolayı tamamlayıcı veya alternatif tedavi olarak bitkisel tedaviye başvurmakta ve olumlu yanıt almaktadır [1]. Dolayısıyla, son zamanlarda günümüz tıbbında daha az yan etkiye ve daha güçlü terapötik etkiye sahip olan bitkisel ilaçlarla tedaviye ilgi oldukça artmıştır [2,3].

Laminaceae familyasındaki çeşitli bitkilerde yaygın olarak bulunan rosmarinik asit; antioksidan, anti-inflamatuvar, antikanser, nöroprotektif özelliklerinin yanı sıra analjezik etkisi de rapor edilmiş bir polifenoldür [4-6]. Sınırlı sayıda çalışmada analjezik etkinlik gösterilmesine rağmen hiçbirinde etki mekanizması yeterince aydınlatılmamıştır. Etki mekanizmalarının aydınlatılması etki kalıbının belirlenebilmesi bakımından önem teşkil etmektedir. Serotonerjik ve adrenerjik sistemin ağrı modülasyonuna önemli katkısı olduğu bilinen ve inisiyatiför yollarda önemli rol oynayan mekanizmalardır [7].

Bu bilgilerden hareketle, farelere oral yolla uygulanan rosmarinik asitin santral analjezik etkinliğinin sıcak-plaka ve kuyruk-batırma testleri ile zamana bağlı olarak değerlendirilmesi, periferik analjezik etkinliğinin ise asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi ile değerlendirilmesi ve söz konusu antinosisepsiyona serotonerjik ve adrenerjik sistem rolünün aydınlatılması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney Hayvanları

Çalışmada 92 adet, 13-15 haftalık balb-c erkek fare (30-35 g) kullanılmıştır. Madde uygulanmasından 12 saat önce aç bırakılan hayvanlar, 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, 22 ± 1 °C sıcaklığındaki odalarda barındırılmış, standart yem pelletleri ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir. Anadolu Üniversitesi (Karar No:2014-03, 11.04.2014) ve Osmangazi Üniversitesi Yerel Etik Komitesi (Karar No:475-1, 19.08.2015) tarafından Etik Kurul Onayı alınmıştır.

Deney Gruplarının Oluşturulması

Deney gruplarına ayrı ayrı: eşit hacim çözücü (kontrol grubu-salin-SF), 0,3, 1 ve 3 mg/kg rosmarinik asit oral yolla (*p.o.*) uygulanmıştır. 0 (baseline), 30., 45., 60., 90. ve 120. dk.'larda, sıcak-plaka ve kuyruk-batırma deneyleri yapılmıştır. Aynı uygulamaları içeren farklı deney gruplarına 45 dk. sonra kıvrınma-testi uygulanmıştır. Etki mekanizmasının incelenmesi için oluşturulan gruplara ise ayrı ayrı, çözücü (salin-SF): 30 mg/kg rosmarinik asit (*p.o.*): SF + 1 mg/kg ketanserin (*i.p.*): 30 mg/kg rosmarinik asit (*p.o.*) + 1 mg/kg ketanserin: çözücü (*p.o.*) + 1 mg/kg yohimbin (*i.p.*): 30 mg/kg rosmarinik asit (*p.o.*) + 1 mg/kg yohimbin uygulanmıştır. Antagonist uygulaması çözücü veya test maddesi uygulamasından 30 dk. önce ve tüm analjezi test prosedürleri test maddesi verilmesinden 45 dk. sonra uygulanmıştır.

Sıcak-plaka Testi

55 °C'ye ısıtılan sıcak-zemin (Hot-Plate: Ugo-Basile, 7280, İtalya) üzerine bırakılan hayvanların arka ayaklarını çekme, yalama veya sıçrama hareketlerinden birinin gözlemlendiği ana kadar geçen zaman cihaza bağlı

kronometre ile ölçülmüştür [8]. Ayaklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilmesi süresi (cut-off time) 20 sn. olarak belirlenmiştir.

Kuyruk-batırma Testi

Hayvanın kuyruğunun ucundan itibaren yaklaşık 3 cm'lik kısmının 52.5 ± 0.2 °C sıcaklığındaki suya (Ultrasonik Su Banyosu, Heto, Allerod, Danimarka) daldırıldığı andan hızlıca çekmesine kadar geçen süre harici kronometre ile manuel olarak ölçülmüştür [9]. Kuyruklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilmesi süresi 15 sn. olarak belirlenmiştir.

Asetik Asit ile İndüklenen Kıvrınma-Testi

Hayvanlarda güçlü visseral ağrı oluşturabilmek için % 0.6'lık asetik asit solüsyonu test maddelerinin uygulanmasından 45 dk. sonra uygulanmıştır (*i.p.*). Uygulamadan 5 dk. sonra başlayan farelerin kıvrınma hareketi sayısı 10 dk. süresince gözlemlenerek sayılmıştır [10]. Asetik asit, hayvanlara maddelerin enjeksiyonundan 45 dk. sonra uygulanmıştır.

İstatistiksel Analiz

Zaman bağlı ölçülen sıcak-plaka ve kuyruk-batırma testlerinden elde edilen verilerin analizleri iki-yönlü tekrarlı ölçümler ANOVA ve ardından Benferonni testi uygulanarak yapılmıştır. Kıvrınma testinden elde edilen verilerin analizleri ve etki mekanizmasının değerlendirildiği çalışmaların sonuçları tek-yönlü ANOVA ve ardından Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanarak ve Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tüm analiz sonuçları ortalama \pm standart hata (S.H.) olarak ifade edilmiş ve istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir. Sıcak-plaka ve kuyruk-batırma testlerinden elde edilen sürelerden hareketle sonuçlar maksimum olası etkinin yüzdesi (% MPE) şeklinde aşağıdaki formülden hareketle hesaplanmıştır:

$$MPE\% = \frac{[(\text{ilaç sonrası ölçülen süre}) - (\text{ilaç öncesi ölçülen süre}) / (\text{deneyi kesme süresi}) - (\text{ilaç öncesi ölçülen süre})] \times 100}$$

BULGULAR

Sıcak-Plaka Testi

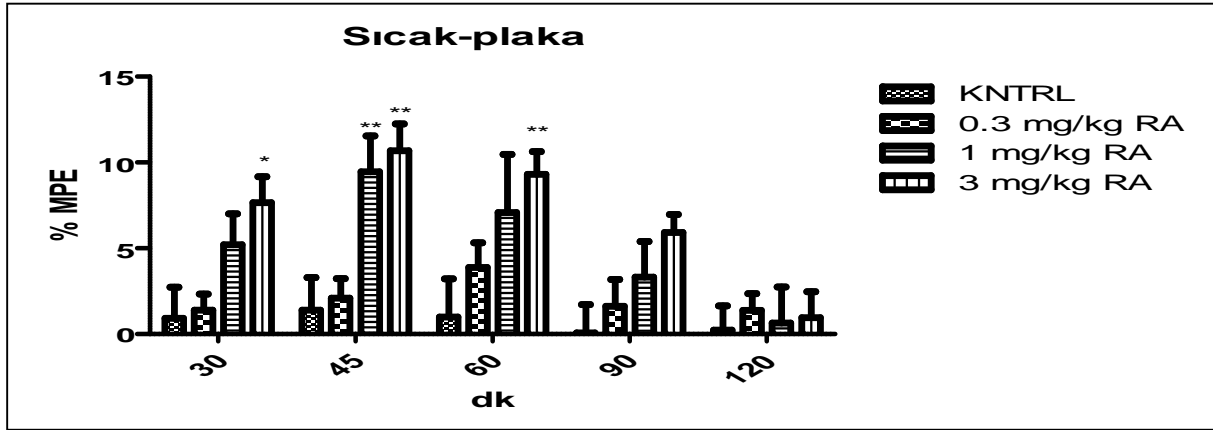
1 mg/kg rosmarinik asitin sadece 45 dk.'da sıcak-plaka ile pençelerine uygulanan termal uyarana karşı verilen cevabın süresini uzattığı ($p < 0.01$) ve 3 mg/kg dozun ise 30, 45 ve 60 dk.'da etkili olduğu belirlenmiştir (3 mg/kg; 30 dk: $p < 0.05$, 45 dk: $p < 0.01$, 60 dk: $p < 0.01$) (Şekil 1).

Kuyruk-Batırma Testi

1 ve 3 mg/kg rosmarinik asitin 45 ve 60 dk. da kuyruk-batırma testi ile kuyruklarına uygulanan termal uyarana karşı cevabın süresini uzattığı (1 mg/kg; 45 ve 60 dk: $p < 0.01$), ayrıca 3 mg/kg dozun etkisinin 30. dk. da başladığı ve 30 dk. kadar devam ettiği belirlenmiştir (3 mg/kg; 30 dk: $p < 0.05$, 45 ve 60 dk: $p < 0.001$) (Şekil 2).

Asetik Asit ile İndüklenen Kıvrınma Testi

0,3, 1 ve 3 mg/kg rosmarinik asit uygulanan hayvanlarda asetik asit ile oluşturulan kıvrınma hareketi sayıları anlamlı olarak (sırasıyla, $p < 0.01$; $p < 0.01$; $p < 0.001$) azalmıştır (Şekil 3).

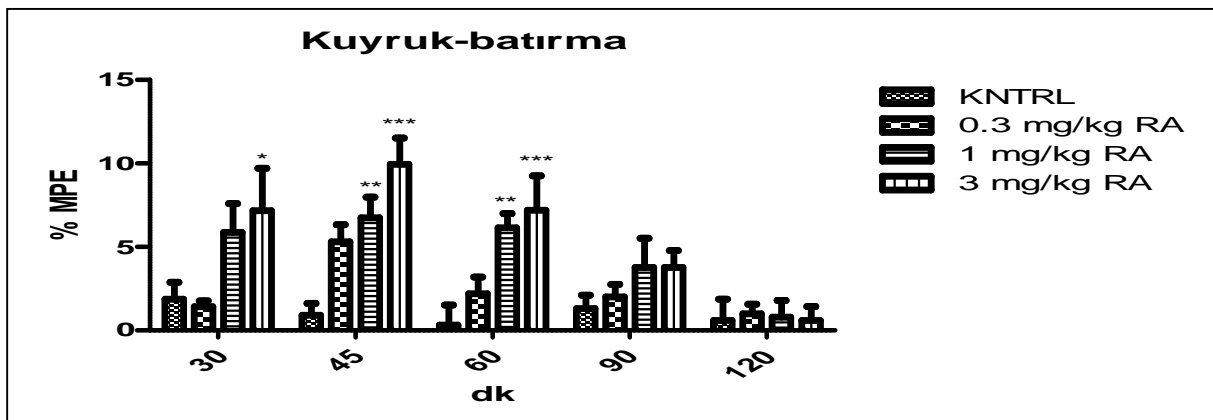


Şekil 1. Rosmarinik Asitin Sıcak-Plaka Testindeki Olası Maksimum Analjezik Etkisi. KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit, MPE; Olası Maksimum Etki. * $p<0.05$, ** $p<0.01$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, Değerler Ortalama \pm S.H. (Standart Hata) (n_{ort} :

Tablo 1. Rosmarinik asitin sıcak-plaka testinde zamana bağlı % MPE sonuçları

Gruplar	30. dk (ort \pm sh)	45. dk (ort \pm sh)	60. dk (ort \pm sh)	90. dk (ort \pm sh)	120. dk (ort \pm sh)
KNTRL (SF) (%MPE)	0.92 \pm 1.81	1.39 \pm 1.88	0.98 \pm 2.23	0.06 \pm 1.66	0.22 \pm 1.42
0.3 mg/kg RA (%MPE)	1.39 \pm 0.93	2.08 \pm 1.14	3.88 \pm 1.43	1.62 \pm 1.56	1.37 \pm 0.98
1 mg/kg RA (%MPE)	5.21 \pm 1.79	9.45 \pm 2.08**	7.08 \pm 3.37	3.31 \pm 2.08	0.64 \pm 2.10
3 mg/kg RA (%MPE)	7.65 \pm 1.50*	10.69 \pm 1.56**	9.30 \pm 1.32**	5.91 \pm 1.05	0.96 \pm 1.50

KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit, MPE; Olası Maksimum Etki. * $p<0.05$, ** $p<0.01$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, Değerler ort \pm sh; Ortalama \pm Standart Hata.

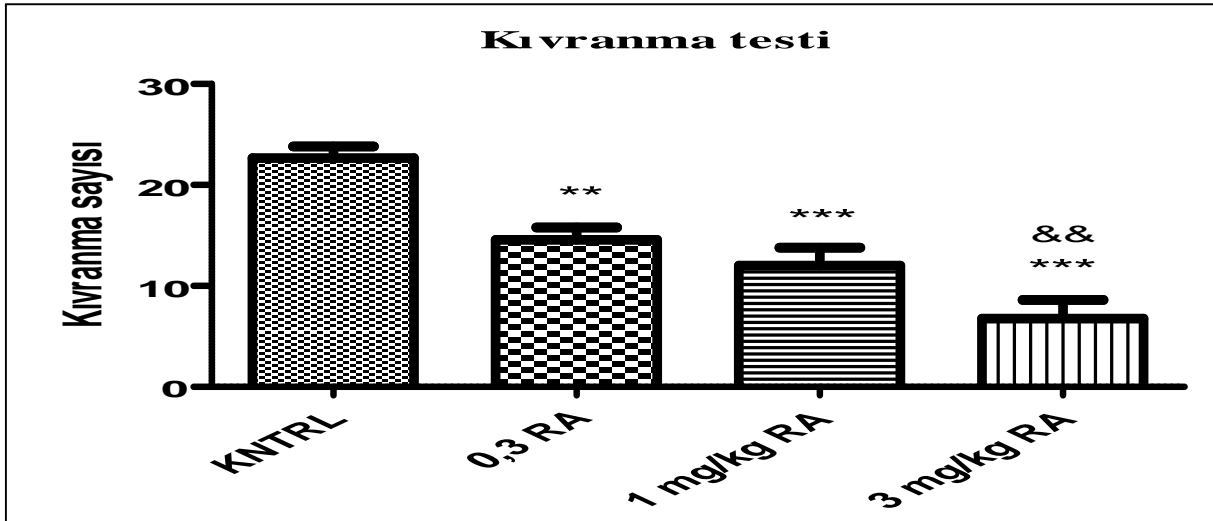


Şekil 2. Rosmarinik Asitin Kuyruk-Batırma Testindeki Olası Maksimum Analjezik Etkisi. KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit, MPE; Olası Maksimum Etki. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, Değerler Ortalama \pm S.H. (Standart Hata) (n_{ort} : 7)

Tablo 2. Rosmarinik asitin kıvruk-batırma testinde zamana bağlı % MPE sonuçları

Gruplar	30. dk (ort ± sh)	45. dk (ort ± sh)	60. dk (ort ± sh)	90. dk (ort ± sh)	120. dk (ort ± sh)
KNTRL (SF) (%MPE)	1.87 ± 1.00	0.90 ± 0.71	0.32 ± 1.19	1.31 ± 0.80	0.58 ± 1.285
0.3 mg/kg RA (%MPE)	1.41 ± 0.35	5.31 ± 1.026	2.18 ± 0.999	2.00 ± 0.75	0.99 ± 0.57
1 mg/kg RA (%MPE)	5.87 ± 1.71	6.74 ± 1.22**	6.14 ± 0.84**	3.76 ± 1.746	0.78 ± 1.012
3 mg/kg RA (%MPE)	7.16 ± 2.53*	9.93 ± 1.57***	7.19 ± 2.05***	3.76 ± 1.011	0.58 ± 0.84

KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit, MPE; Olası Maksimum Etki. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, Değerler ort ± sh; Ortalama ± Standart Hata.



Şekil 3. Rosmarinik Asitin Kıvrınma Testindeki Analjezik Etkisi. KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, && $p<0.01$; 0.3 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Farklılık, Değerler Ortalama ± S.H. (Standart Hata) (n_{ort} : 7)

Tablo 3. Rosmarinik asitin kıvrınma testinde kıvrınma sayısı üzerine etkileri

Gruplar	KNTRL (SF) (ort ± sh)	0.3 mg/kg RA (ort ± sh)	1 mg/kg RA (ort ± sh)	3 mg/kg RA (ort ± sh)
Kıvrınma sayısı	22.67 ± 1.14	14.57 ± 1.21**	12.00 ± 1.78***	6.750 ± 1.85***, &&

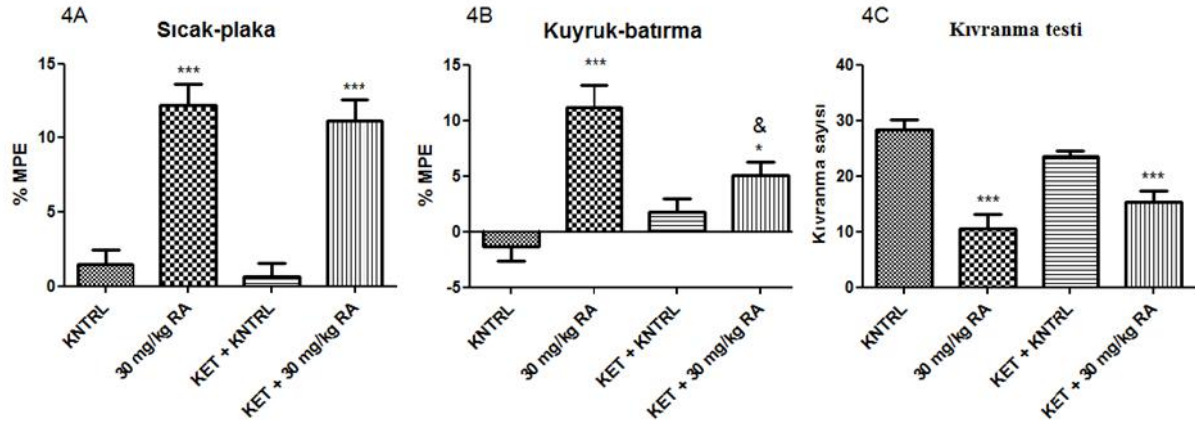
KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, && $p<0.01$; 0.3 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Farklılık, Değerler ort ± sh; Ortalama ± Standart Hata.

Rosmarinik Asitin Analjezik Etkisine Serotonerjik Sistemin Katkısı

Şekil 4'de sırasıyla sıcak-plaka (4A), kuyruk-batırma (4B) ve kıvranma testi (4C) sonuçları görülmektedir. Ketanserin ön-uygulaması, 30 mg/kg rosmarinik asitin oluşturduğu termal uyarana karşı verilen cevap süresindeki artışı sıcak-plaka testinde değiştirmezken, kuyruk-batırma testinde ise anlamlı olarak ($p<0.05$) geri çevirmiştir. Kıvranma testinde ise ketanserin ön-uygulamasının, 30 mg/kg rosmarinik asit uygulaması ile azaltılan kıvranma sayısı üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir.

Rosmarinik Asitin Analjezik Etkisine Adrenerjik Sistemin Katkısı

Şekil 5'de sırasıyla sıcak-plaka (5A), kuyruk-batırma (5B) ve kıvranma testi (5C) sonuçları görülmektedir. Yohimbin ön-uygulaması, 30 mg/kg rosmarinik asitin oluşturduğu termal uyarana karşı verilen cevap süresindeki artışı sıcak-plaka testinde anlamlı olarak değiştirmese de göreceli olarak azaltmıştır. Kuyruk-batırma testinde ise anlamlı olarak ($p<0.05$) geri çevirmiştir. Kıvranma testinde, 30 mg/kg rosmarinik asit uygulaması ile azaltılan kıvranma sayısını anlamlı olarak ($p<0.05$) arttırmıştır.

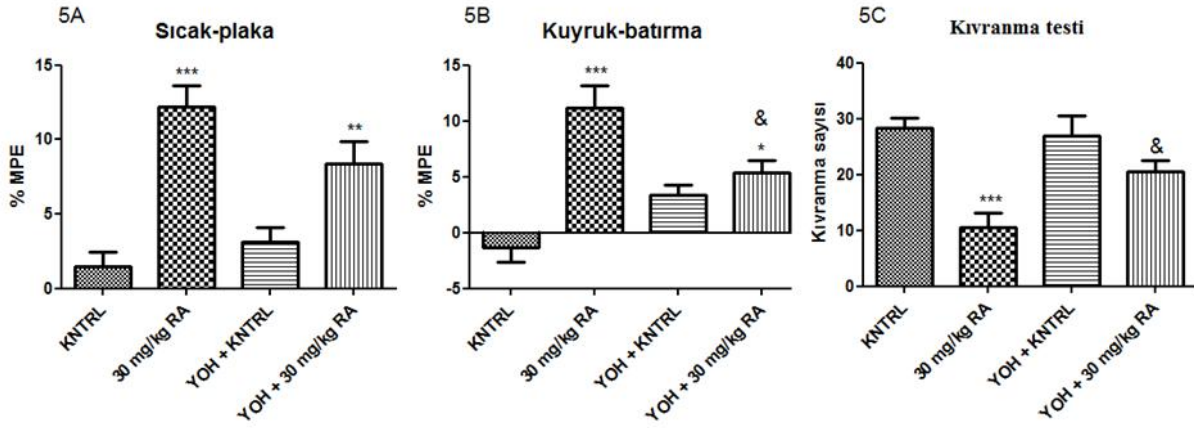


Şekil 4. 30 mg/kg Rosmarinik Asitin Sıcak-Plaka (4A), Kuyruk-Batırma (4B) ve Kıvranma Testinde (4C) Göstermiş Olduğu Analjeziye 1 mg/kg Ketanserin Ön-Uygulamasının Etkisi. KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. KET; Ketanserin. * $p<0.05$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, & $p<0.05$; 30 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Fark, Değerler Ortalama \pm S.H. (Standart Hata) (n_{ort} : 6)

Tablo 4. Rosmarinik asitin (30 mg/kg) sıcak-plaka, kuyruk-batırma ve asetik asit kıvranma testlerinde gösterilen analjezik etkisine serotonerjik sistemin katkısı

Gruplar	KNTRL (SF) (ort \pm sh)	30 mg/kg RA (ort \pm sh)	KET + SF (ort \pm sh)	KET + 30 mg/kg RA (ort \pm sh)
Sıcak-plaka (%MPE)	1.48 \pm 0.96	12.18 \pm 1.40***	0.62 \pm 0.93	11.14 \pm 1.40***
Kuyruk-batırma (%MPE)	-1.37 \pm 1.30	11.17 \pm 2.04***	1.74 \pm 1.19	5.08 \pm 1.21*,&
Kıvranma Testi (Kıvranma sayısı)	28.33 \pm 1.82	10.57 \pm 2.59***	23.50 \pm 1.11	15.25 \pm 2.10***

KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. KET; Ketanserin. MPE; Olası Maksimum Etki. * $p<0.05$, *** $p<0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, & $p<0.05$; 30 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Fark, Değerler ort \pm sh; Ortalama \pm Standart Hata.



Şekil 5. 30 mg/kg Rosmarinik Asitin Sıcak-Plaka (5A), Kuyruk-Batırma (5B) ve Kıvrınma Testinde (5C) Göstermiş Olduğu Analjeziye 1 mg/kg Yohimbın Ön-Uygulamasının Etkisi. KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. YOH; Yohimbın. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, & $p < 0.05$, && $p < 0.01$; 30 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Fark, Değerler Ortalama \pm S.H. (Standart Hata) (n_{ort} : 6)

Tablo 5. Rosmarinik asitin (30 mg/kg) sıcak-plaka, kuyruk-batırma ve asetik asit kıvrınma testlerinde gösterilen analjezik etkisine adrenerjik sistemin katkısı

Gruplar	KNTRL (SF) (ort \pm sh)	30 mg/kg RA (ort \pm sh)	YOH + SF (ort \pm sh)	YOH + 30 mg/kg RA (ort \pm sh)
Sıcak-plaka (%MPE)	1.48 \pm 0.96	12.18 \pm 1.40***	3.11 \pm 0.99	8.35 \pm 1.53**
Kuyruk-batırma (%MPE)	-1.37 \pm 1.30	11.17 \pm 2.04***	3.36 \pm 0.85	5.32 \pm 1.15* &
Kıvrınma Testi (Kıvrınma sayısı)	28.33 \pm 1.82	10.57 \pm 2.59***	26.83 \pm 3.61	20.57 \pm 1.92&

KNTRL; Kontrol Grubu, RA; Rosmarinik Asit. YOH; Yohimbın. MPE; Olası Maksimum Etki. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; Kontrol Grubuna Göre Anlamlı Fark, & $p < 0.05$; 30 mg/kg Rosmarinik Asite Göre Anlamlı Fark, Değerler ort \pm sh; Ortalama \pm Standart Hata.

TARTIŞMA

Rosmarinik asitin santral analjezik etkisini değerlendirmek için seçilen sıcak-plaka ve kuyruk-batırma testleri sırasıyla spinal ve supraspinal refleksleri ayırt etmeye olanak tanıyan yöntemlerdir [11]. Asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi ise periferik kaynaklı ağrıyı indüklemek için kullanılan kimyasal bir yöntemdir [3]. Rosmarinik asit analjezi ile ilgili sınırlı sayıda bilgiler çelişkili gözükmeyle birlikte [4-6,12], bu çelişkinin deneysel çalışmalarda kullanılan yöntemlerin, rosmarinik asit dozlarının ve kullanılan hayvan türlerinin farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu

çalışmada elde edilen sonuçlar rosmarinik asitin supraspinal, spinal ve periferik düzeyde etkili olan bir analjezik madde olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak rosmarinik asitin etkin olduğu zaman aralığını belirlemek için santral analjezik etkinliği zamana bağlı olarak ölçülmüştür. Rosmarinik asitin kullanılan dozlarında 45. dk. da maksimum etki gösterdiği ve etkisinin yaklaşık 1 saat devam ettiği gözlenmiştir. Ayrıca, rosmarinik asitin supraspinal ve spinal seviyede orta düzeyde santral analjezi gösterdiği belirlenirken periferik analjezik etkisinin daha güçlü olduğu görülmektedir.

Çalışmalarda rosmarinik asitin analjezik etkisine aracılık eden mekanizmalardan yalnızca opioidlerjik sistemin katkısının araştırıldığı görülmektedir [12]. Ancak, ağrı modülasyonu periferden santrale bir çok inhibitör veya eksitator mediyatörün ve değişik reseptör gruplarının uyumlu çalışmasıyla yönetilen kompleks bir süreçtir [7,13]. Bu nedenle rosmarinik asitin analjezisine, ağrının santral ve periferel modülasyonunda etkin rol oynadığı bilinen inhibitör serotonerjik ve adrenerjik sistemin katkısı araştırılmıştır.

İnhibitör serotonerjik ve adrenerjik inisiyolayklar aracılığıyla antinosesepsiyon sağlamak için periaquaduktal gri madde veya rostral ventral medulla'nın stimülasyonu ile serotonin ve noradrenalin seviyelerinin arttığı ve bu artışın spinal serotonerjik ve adrenerjik antagonistlerle bloke edilmesi, inisiyolayksiyonla ilişkili antinosesepsiyona serotonin ve noradrenalinin güçlü bir katkısı olduğunu göstermektedir [14,15]. Spinal inhibitör internöronlardaki serotonin 5-HT_{2A} reseptörleri ve 5-HT_{2C} bölgeleri serotoninin potansiyel antinosesepitif etkisine aracılık etmektedir [16]. Spinal α_2 -adrenerjik reseptörlerin ise noradrenalinin antinosesepitif etkisine aracılık ettiği bilinmektedir [17]. Bu çalışmada, serotonin 5-HT_{2A/2C} antagonisti ketanserin ön-uygulamasının sadece kuyruk-batırma testinde rosmarinik asit etkisini geri çevirdiği görülmüştür. Ketanserin kemirgenlerde özellikle serotonin 5-HT_{2A} reseptörlerinin selektif bir antagonisti olduğu bilinmektedir [18]. α_2 -adrenoseptör antagonisti yohimbin ön-uygulaması ise, hem kuyruk-batırma testiyle spinal düzeyde hem de periferel kıvrınma-testinde rosmarinik asit ile indüklenen analjeziyi anlamlı olarak geri çevirirken, sıcak-plaka testi ile supra-spinal seviyede anlamsız da olsa analjezik etkide bir düşüşe neden olmuştur. Dolayısıyla, spinal inhibitör internöronlardaki serotonin 5-HT_{2A} reseptörlerin, spinal inisiyolayktör yolakta ve periferde yer alan α_2 -adrenerjik reseptör aktivasyonunun rosmarinik asit analjezisine belirgin katkı sağladığı, supraspinal seviyede ise α_2 -adrenerjik reseptör aktivasyonunun kısmen rol oynuyor olabileceği düşünülmüştür. Noradrenalinin α_2 -adrenerjik reseptörler aracılığıyla periferde ağrıya neden olduğu bildirilse de, birtakım çalışmalarda periferel α_2 -adrenerjik reseptörlerin ağrıyı suprese ettiği ve noradrenalinin inflamatuvar hücrelerdeki α_2 -adrenerjik reseptörleri stimüle ederek periferel opioid reseptörleri uyarıcı β -endorfin salınımına neden olduğu ve bu şekilde periferde analjezi sağladığı bildirilmektedir [17,19,20].

Sonuç olarak rosmarinik asit, hem inisiyolayktör yolağın spinal organizasyonunda yer alan serotonerjik ve noradrenerjik sistemi hem de periferel noradrenerjik sistemi stimüle ederek santral ve periferel analjezik etki sağlamaktadır. Rosmarinik asitin supraspinal analjezisinde ise farklı modülator sistemlerin rol aldığı düşünülmektedir. Dolayısıyla, rosmarinik asitin düşük toksisiteye sahip (LD₅₀; 561 mg/kg, i.v.) [21] doğal bir antioksidan olduğu göz önünde bulundurulduğunda ağrının eşlik ettiği rahatsızlıklarda yardımcı ilaç olarak faydalanılabilecek bir ajan olduğunu söylemek pek de yanlış olmayacaktır. Rosmarinik asit ile yapılacak kombinasyon tedavilerinin, mevcut ilaçların yan etkilerinin azaltılmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın bir kısmı Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 1305S106).

KAYNAKLAR

1. Zareba G. Phytotherapy for pain relief. *Drugs Today (Barc)* 2009; 45: 445-467.
2. Süzer Ö. Premium Farmakoloji (3. baskı). Klinisyen Tıp Kitapevleri, Ankara 2005; pp 241-534.
3. Mehrotra A, Shanbhag R, Chamallamudi MR, et al. Ameliorative effect of caffeic acid against inflammatory pain in rodents. *Eur J Pharmacol* 2011; 666: 80-86.
4. Guginski G, Luiz AP, Silva MD, et al. Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice. *Pharmacol Biochem and Behavior* 2009; 93 (1): 10-16.
5. Lucarini R, Bernardes WA, Ferreira DS, et al. *In vivo* analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. *Pharm Biol* 2013; 51: 1087-1090.
6. Hasanein P, Mohammad Zaheri L. Effects of rosmarinic acid on an experimental model of painful diabetic neuropathy in rats. *Pharm Biol* 2014; 52: 1398-1402.
7. Kwon M, Altin M, Duenas H, et al. The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. *Pain Pract* 2014; 14: 656-667.
8. Eddy NB, Leimback D. Synthetic analgesics II Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 107: 385-393.
9. Schmauss C, Yaksh TL. *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* 1984; 228: 1-12.
10. Koster R, Anderson M, Beer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc* 1959; 18: 412.
11. Flores JA, El Banoua F, Galan-Rodriguez B, et al. Opiate anti-nociception is attenuated following lesion of large dopamine neurons of the periaqueductal grey: critical role for D1 (not D2) dopamine receptors. *Pain* 2004; 110: 205-214.
12. Boonyarikpunchai W, Sukrong S, Towiwat P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacol Biochem Behav* 2014; 124: 67-73.
13. Schaible HG. Peripheral and central mechanisms of pain generation. *Handb Exp Pharmacol* 2007; 177: 3-28.
14. Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F. Central modulation of pain. *J Clin Invest*. 2010; 120: 3779-3787.
15. Pertovaara A, Almeida A. Descending inhibitory system. In: Cervero F, Jensen TS (eds), *Endogenous Pain Modulation Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, Amsterdam 2006; pp 179-192.
16. Silveira JW, Dias QM, Del Bel EA, et al. Serotonin receptors are involved in the spinal mediation of

- descending facilitation of surgical incision-induced increase of Fos-like immunoreactivity in rats. *Mol Pain* 2010; 6: 17.
17. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation. *Prog Neurobiol* 2006; 80: 53-83.
 18. Kayaalp O, Uzbay T. Santral sinir sistemi Farmakolojisinin temelleri. In: Kayaalp O (eds), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (13. baskı). Taş Kitapevi, Ankara 2009; pp 664.
 19. Dogrul A, Uzbay IT. Topical clonidine antinociception. *Pain* 2004; 111 (3): 385-391.
 20. Binder W, Mousa SA, Sitte N, et al. Sympathetic activation triggers endogenous opioid release and analgesia within peripheral inflamed tissue. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 92-100.
 21. Petersen M, Simmonds MS. Rosmarinic acid. *Phytochem* 2003; 62: 121-125.

