KAEMPFEROLÜN ANALJEZİK ETKİ MEKANİZMASINA KATKIDA BULUNAN SİSTEMLERİN İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Kaan KAYIŞ

Eskişehir 2020

KAEMPFEROLÜN ANALJEZİK ETKİ MEKANİZMASINA KATKIDA BULUNAN SİSTEMLERİN İNCELENMESİ

Kaan KAYIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Nisan 2020

ÖZET

KAEMPFEROLÜN ANALJEZİK ETKİ MEKANİZMASINA KATKIDA BULUNAN SİSTEMLERİN İNCELENMESİ

Kaan KAYIŞ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Kaempferol, antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser etkiler gösteren flavonoid kökenli bir bileşiktir. Yapılan çalışmalarda antioksidan etkisinin yanı sıra nöroprotektif ve kardiyoprotektif etkileri olduğu da gösterilmiş olmasına rağmen analjezik etkinliğinin ve bu etkiye ait mekanizmaların yeterince aydınlatılmadığı görülmektedir. Tez kapsamında kampferol 25, 50, 100 ve 200 mg/kg olmak üzere 4 farklı dozda uygulanmış, santral analjezik etkisini değerlendirmek için sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri, periferal analjezik etkinin incelenmesinde ise asetik asitle indüklenen kıvranma testi kullanılmıştır. Analjezik etki mekanizmasını incelemek amacıyla 50 mg/kg dozda kaemferol adrenerjik (prazosin ve yohimbin), serotonerjik (ketanserin, ondansetron, WAY100635) ve opioiderjik sistem (nalokson) üzerinde etkili antagonistlerin varlığında değerlendirilmiştir. Kaempferol uygulanan tüm dozlarda hem santral hem periferik analjezi testlerinde antinosiseptif etki göstermiştir. α1 adrenoseptör antagonisti prazosin ve α2 adrenoseptör antagonisti yohimbin kaemferolün analjezik etkinliğini santral düzeyde anlamlı olarak baskılarken, periferde göreceli olarak baskıladığı belirlenmiştir. 5-HT_2 reseptör antagonisti ketanserin, 5-HT_{1A} reseptör antagonisti WAY 100635 ve 5-HT_3 reseptör antagonisti ondansetron uygulandığında kaempferolün analjezik etkisinin hem periferal hem santral olarak engellendiği görülmüştür. Opioiderjik reseptör antagonisti nalokson uygulamasında ise opioderjik sistemin, kaempferolün hem periferal hem de santral analjezik etkisine kısmen katıldığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kaempferol, Sıcak plaka testi, Kuyruk daldırma testi, Kıvranma testi.

ABSTRACT

EXAMINATION OF THE SYSTEMS THAT CONTRIBUTED TO THE ANALGESIC MECHANISM OF KAEMPFEROL

Kaan KAYIŞ

Department of Pharmacology

Anadolu Üniversitesi, Graduate School of Health Sciences, January 2020

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Kaempferol is a compound of flavonoid origin, showing antioxidant, anti-inflammatory, anticancer containing. In studies conducted, it has been shown that it is neuroprotective and cardioprotective as well as antioxidant effect, but analgesic efficacy and mechanisms of this effect are not adequately illuminated. Bench kaempferol was applied in 4 different doses, 25, 50, 100 and 200 mg/kg. Hot plate and tail immersion tests are required to evaluate central analgesic evaluation, acetic acid-induced writhing test is required for the treatment of peripheral analgesic effect. When you think that there are antagonists effective on Kaempferol adrenergic (prazosin and yohimbine), serotonergic (ketanserin, ondansetron, WAY 100635) and opioidergic system (naloxone) to examine analgesic action mechanisms. Antinociceptive domains in both central and peripheral analgesia tests at all doses in the kaempferol list. While the central evaluation significantly suppresses the analgesic effectiveness of the α1 adrenoceptor antagonist prazosin and the α2 adrenoceptor antagonist yohimbine kaempferol in the central evaluation. Apply 5-HT_2 receptor antagonist ketanserin, 5-$_{HT1A}$ receptor antagonist WAY 100635 and 5-HT_3 receptor antagonist ondansetron, because the analgesic effect of kaempferol can be disabled both peripherally and centrally. In the application of opioidergic receptor antagonist naloxone, the reason why the opiodergic system has folded both the peripheral and central analgesic effect of kaempferol.

Keywords: Kaempferol, Hot plate test, Tail immersion test, Writhing test.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim süreci boyunca araştırmalarımda ve düzenlemelerimde rehberlik eden, beni yönlendiren, sabırla ve güleryüzle yaklaşan sayın hocam Prof. Dr. Rana ARSLAN'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim süreci boyunca bilgisine deneyimlerine başvurduğum, yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN hocama ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans projemin tamamlanması sürecinde bana yardımcı olan aileme ve dostlarıma da en derin teşekkürlerimi sunarım.

10/04/2020

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

BAŞLIK SAYFASI i

JURİ VE ENSTİTÜ ONAYI ii

ÖZET iii

ABSTRACT iv

ÖNSÖZ v

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ vi

İÇİNDEKİLER vii

ŞEKİLLER DİZİNİ xi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xii

1. GİRİŞ 1

1.1 Ağrı Hakkında 4

1.1.1 Ağrı tanımı 4

1.1.2 Ağrı sınıflandırması 4

1.1.2.1. *Süreye göre değerlendirme* 4

1.1.2.2. *Ağrı bölgesine göre değerlendirme* 5

1.1.2.3. *Kökenine göre değerlendirme* 5

1.1.2.4. *Patofizyolojisine göre değerlendirme* 5

1.1.2.4.1 *Nosiseptif ağrı* 5

1.1.2.4.2 *Nöropatik ağrı* 6

Sayfa

1.1.3 Ağrı duyusunun algılanması 7

1.1.3.1 *Antinosiseptif inici sistemler* 7

1.1.3.1.1 *Seratonin ve inici sistemler* 8

1.1.3.1.2. *Noradrenalin ve inici sistemler* 8

1.2. Ağrının Doğal Tedavisi 8

1.2.1. Flavonoidler 9

1.2.1.1. *Flavonidlerin yapısı* 10

1.2.1.2. *Flavonoidlerin sınıflandırılması* 10

1.2.1.3. *Gıdalar ile alımları ve biyoyararlanımları* 10

1.2.1.4. *Biyolojik aktiviteleri* 11

1.2.1.4.1. *Antioksidan aktivite* 12

1.2.1.4.2. *Diğer etkiler* 13

1.2.1.5. *Kaempferol* 15

1.2.1.5.1. *Kaempferol ve inflamatuvar sistem* 16

2. GEREÇ VE YÖNTEM 19

2.1. Analjezik Aktivite Deneyleri 19

2.1.1. Hayvanlar 19

2.1.2. Uygulanacak maddeler 19

2.1.3. Hot Plate (Sıcak Plaka) testi 19

2.1.4. Tail İmmersion (Kuyruk Daldırma) testi 20

Sayfa

2.1.5. Aseteik asit ile kıvranma testi 20

2.1.6. Lokomotor aktivite testi 20

2.1.7. Veri analizi 20

2.1.8. Deney grupları 21

3. BULGULAR 23

3.1. Kaempferol Uygulanması 23

3.1.1. Sıcak Plaka testi 23

3.1.2. Kuyruk Daldırma testi 24

3.1.3. Asetik asit ile kıvranma testi 24

3.1.4. Kaempferol uygulaması ve lokomotor aktivite ilişkisi 25

3.2. Kaempferolün Analjezik Etkinliğinin Diğer Analjeziklerle Etkileşimi 26

3.2.1. 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak uygulaması 26

3.2.2. 25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak uygulaması 27

3.2.3. 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadol uygulaması 28

3.2.4. 25 mg/kg kaempferol ve 15 mg/kg tramadol uygulaması 29

3.3. Kaempferol'ün Analjezik Etkisinin Adrenerjik Sistem İlişkisi 30

3.3.1. α1 reseptörleri 30

3.3.2. α2 reseptörleri 30

3.4. Kaempferol'ün Analjezik Etkisinin Seratonerjik Sistem İlişkisi 31

3.4.1. 5-HT_2 reseptörleri 31

Sayfa

3.4.2. 5-HT_3 reseptörleri 32

3.4.3. 5-HT_{1A} reseptörleri 32

3.5. Kaempferol'ün Analjezik Etkisinin Opioİderjik Sistem İlişkisi 33

4. TARTIŞMA 34

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 39

KAYNAKÇA 40

ÖZGEÇMİŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO VE ADI **SAYFA**

Şekil 3.1. Kaempferolün antinosiseptif etkisinin sıcak plaka testinde değerlendirilmesi **23**

Şekil 3.2. Kaempferolün antinosiseptif etkisinin kuyruk daldırma testinde değerlendirilmesi. **24**

Şekil 3.3. Kaempferolün antinosiseptif etkisinin asetik asitle indüklenen kıvranma testinde değerlendirilmesi. **25**

Şekil 3.4. Kaempferolün lokomotor aktivite testinde yatay ve dikey hareketler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. **25**

Şekil 3.5. Kaempferolün antinosiseptif etkisinin sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde diklofenak ile kombine kullanıma göre değerlendirilmesi. **26**

Şekil 3.6. Kaempferolün antinosiseptif etkisinin sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde diklofenak ile kombine yarı dozlarda kullanıma göre değerlendirilmesi. **27**

Şekil 3.7. Kaempferol ve tramadol kombine kullanımının değerlendirilmesi. **28**

Şekil 3.8. Kaempferol ve tramadol kombine kullanımının yarı doz değerlendirilmesi. **29**

Şekil 3.9. Kaempferolün antinosiseptif etkisine alfa-1 adrenerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **30**

Şekil 3.10. Kaempferolün antinosiseptif etkisine alfa-2 adrenerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **31**

Şekil 3.11. Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT2 serotonerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **31**

Şekil 3.12. Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT3 serotonerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **32**

Şekil 3.13. Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT1A serotonerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **33**

Şekil 3.14. Kaempferolün antinosiseptif etkisine opioidrejik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. **33**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α : Alfa

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ANOVA : Tek Yönlü Varyans Analizi

β : Beta

COX-2 : Siklooksijenaz 2

Dk : Dakika

DMSO : Dimetil Sülfoksit

DNA : Deoksiribonükleik Asit

GABA : Gamaaminobütirik Asit

GSH : Redükte Glutatyon

IASP : International Association for the Study of Pain, Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği.

IL : İnterlökin

IR : İnfrared, kızılötesi

IRAK1 : İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz 1

IRAK2 : İnterlökin-1 reseptörü ile ilişkili kinaz 2

İ.p. : İntraperitoneal

JAK3 : Janus kinaz 3

Kamf : Kaempferol

Ket : Ketanserin

μ : Mü

n : Örneklem sayısı

Nal : Nalokson

NF-kB : Nükleer Faktör Kappa B

NpGC : Nucleus reticularis Paragigantocellularis

NRM : Nucleus Raphe Magnus

NSAİİ : Non-steroidal Antiinlamatuvar Ilaçlar

Ond : Ondansetron

P : İstatiksel anlamlı fark

PAG : Periaqueductal Gri Bölge

Pra : Prazosin

ROS : Reaktif oksijen ürünleri

RVM : Rostroventromedial Medulla

SEM : Standart error of mean, standart hata

Sn : Saniye

Src : Proto-onkojenik tirozin kinaz grubu

STAT5 : Sinyal transdüseri ve transkripsiyon 5

STAT6 : Sinyal transdüseri ve transkripsiyon 6

Syk : Dalak tirozin kinaz

TNF : Tümör Nekroz Faktör

TRP : Transient Reseptor Potential

WAY : WAY 100635

Yoh : Yohimbin

1. GİRİŞ

Uluslararası ağrı araştırmaları derneğince (International Association for the Study of Pain=IASP), vücudun herhangi bir yerinden başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleri ile ilgili, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu şeklinde tanımlanan ağrı kavramı, günümüzde üzerinde farklı yaklaşımlar geliştirimeyi gerekli kılmaktadır. Bu durumun en büyük nedeni ağrının hafifletilmesi amacıyla kullanılan non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ), opioidlerin, trisiklik antidepresanların ve antikonvülzanların çeşitli yan etkiler barındırması ile yanlış kullanım ve susitimale açık olmalarıdır (Zareba, 2009).

Özellikle opioid grubu ilaçlarda görülmekle beraber NSAİİ grubu ilaç kullanımında da sıkça karşılaştığımız ilacın suistimali veya yanlış kullanımı hala ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İlaç suistimali günden güne artış göstermektedir. ABD'de yapılan bir çalışmada opioid suistimalinden ölümlere bakıldığında, 1999'da %30 iken bu oranın 2010'da %60'lara kadar çıktığı tespit edilmiştir (Kılıç, 2017).

NSAİİ'ler elde edilmesi daha kolay olduğundan ve fiyatları görece daha uygun olduğundan ağrı tedavisinde ilk seçenek ilaçlar olarak görülmektedirler. Opioid analjeziklere oranla bağımlılık gelişme riski minimal düzeyde olmakla birlikte NSAİİ'lerin de pek çok yan etkisi olduğu bilinmektedir. NSAİİ kullanımına bağlı olarak, gastrointestinal sistemin yan etkileri, karaciğer enzimlerinde yükselme, böbreklerde akut interstisiyel nefrit, renal hipoperfüzyon ve buna bağlı akut böbrek yetmezliği, astım nöbetleri, bronkospazm, anaflaktik şok, anjiyoödem, ilaca bağlı döküntüler, kan basıncında artış ve kalp yetmezliği vakalarında kötüleşme yan etki olarak karşımıza çıkabilmektedir (Eroğlu ve Eyigör, 2017).

Tüm bu bilgiler göz önüne alındığında ağrı gibi günümüzde hala önemini koruyan bu problemin tedavisi için yeni, güvenli ve etki gücü yüksek ilaçlara ihtiyaç duyulduğu göze çarpmaktadır. Yeni ilaç geliştirme çalışmalarında en sık tercih edilen yolların başında yeni kimyasal maddelerin sentezi ya da bitkiler içerisinde var olan etken maddeler gibi doğada bulunan seçeneklerden yola çıkarak onların etkilerinin değerlendirilmesidir. Flavonidler bitkiler içerisinde yer alan önemli biyolojik aktif maddelerdir ve yeni ilaç geliştirilmesi amacıyla incelenmeleri önem taşımaktadır. Önceleri sadece bitki fizyolojisindeki görevleri

ile renk ve lezzet faktörleri için incelenmekteyken son yıllarda sağlık alanındaki etkileri keşfedilmeye başlanmıştır. Biyolojik aktivitelerine ait ilk çalışma Rusznyak ve Szent-Gyorgyi (1936) tarafından yapılmıştır. Polifenol bileşikleri arasındaki en geniş grup olan difenilpropanlar ile kimyasal yapı bakımından benzerlik göstermekte olup iki benzen halkası ve oksijen içeren bir piren halkasının birleşimiyle oluşan flavan çekirdeği ihtiva etmektedirler. Bitkilerde genellikle şeker molekülü içeren glikozit formunda bulunmakla beraber daha az oranda aglikon formda da bulunabilmektedirler. Günlük yaşamda tükettiğimiz birçok bitki flavonoidler için kaynak konumundadır. Bunlar içinde narenciye meyveleri, kuşburnu, kayısı, vişne, üzüm türleri, elma, kuş üzümü yaban mersini, soğan, yeşil biber, brokoli, domates, ıspanak, kırmızı şarap, kahve, çay, soya ürünleri ve baharatları sayabiliriz (Güven vd., 2010).

Öncelikle metabolizma sonucu oluşan reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) flavonoid bileşikleri tarafından üretimlerinin engellendiği ya da nötralize edildikleri keşfedilmiştir. DNA, lipidler veya proteinler ile etkileşerek yapılarını bozabilen ROS'nin nötralize edilmesi hücrenin mevcut yaşamını sürdürebilmesi ve görevlerini icra edebilmesi açısından önemlidir. Diğer yandan kanser ve kardiyovasküler hastalıklara bağlı çoğu tabloda prooksidan hasarın eşlik ettiği gösterilmiştir. Buna bağlı olarak hastalıkların önlenmesinde antioksidanların kullanımı gündeme gelmiştir. Flavonoidler eksojen antioksidanların önemli bir kısmını ihtiva etmektedirler. Yapıca lipofilik olmalarına rağmen diğer bir önemli antioksidan olan α-Tokoferol'e göre daha hidrofiliktirler. Sulu peroksil radikallerini yakalayarak lipit yapılı peroksil radikallerine α-Tokoferolden daha hızlı etki ederler. Flavonoid alımı bu sayede α-Tokoferol'ün tüketimini engellemiş olur. Diğer bir lipofilik antioksidan olan askorbik asit ile beraber 3'lü şekilde sinerjizma gösterir ve birbirlerini rejenere ederler. Ancak etki yelpazesi antioksidan etki ile sınırlı değildir. Antiinflamatuar, antiviral, antitümoral, antitrombotik, antiallerjik, kardiyoprotektif, vazodilatör ve immunositokimyasal etkileri de gösterilmiştir (Kahraman vd., 2002).

Kaempferol, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen, farmakolojik ve nutrasötik özelliklerinden dolayı üzerinde çalışılan bir flavonoiddir. Sebzeler, meyveler ve tedavi amaçlı kullanılan bitkilerde rastlanılmaktadır. Özellikle üzüm (vitis cinsi) bitkisinde 10 çeşit kaempferol bileşiğine rastlanmıştır. Çalışmalar kanser, ateroskleroz ve

kardiyovasküler bozuklukları azalttığını ve aynı zamanda antioksidan ve antiinflamatuar etkilere sahip olduğunu da göstermektedir. Kaempferolün aynı zamanda in vitro ortamda inflamatuar cevabı baskıladığı gösterilmiştir. Bunu yalnızca ROS'u süpürerek değil NF-kB ve AP-1 aktivasyonu yapan src, syk, IRAK1 ve IRAK2'yi direkt olarak inhibe ederek de sağladığı açığa çıkartılmıştır. Bu mekanizma kronik inflamasyon ve kanser ile sıkı bir ilişki içindedir (Garde vd., 2016). Kıvranma ve formalin testleri kullanılarak kaempferol 3-O-rutinosid ve kaempferol 3-O-glucosidin analjezik etkileri incelendiğinde her iki testte her iki maddenin de analjezik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Wang vd., 2013). *Chiliotrichum diffusum* çiçeklerinden elde edilen ekstre ile yapılan çalışmalarda kıvranma ve sıcak plaka testlerinde analjezik etki gözlenmiştir. Ekstrenin incelenmesi sonucunda içeriğinde kaempferolünde bulunduğu belirlenmiştir (Bahamonde vd., 2013). Bir başka çalışmada ise *Cistus laurifolius*'tan izole edilen 3,7-O-dimethylkaempferol ile yapılan kıvranma deneyinde antinosiseptif etkisi olduğu ve karregen ile indüklenen pençe ödemi testinde antiinflamatuvar etkisi belirlenmiştir (Küpeli ve Yesilada, 2007). Streptozotosin aracılığıyla oluşturulan diyabetik nöropati modelinde Eruca sativa tohumlarından izole edilen kaempferolün etkisi incelenmiş ve diyabetik nöropati ve diyabetik nöropatik ağrı tedavisinde kullanılabileceği öngürülmüştür (Kishore vd., 2017). Diğer bir çalışmada kaempferol-3,7- di-O-α-L-rhamnopyranosid bileşiğinin asetik asitle yapılan kıvranma testinde anlamlı derecede analjezik cevaplar verdiği gösterilmiştir (Ali vd., 2017).

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında Kaempferolün analjezik etkisini gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte bu etkiye aracılık eden mekanizmaları aydınlatmaya yönelik çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Çalışmamız kapsamında Kaempferol'e ait analjezik etkilere aracılık eden olası mekanizmaların incelenmesi planlanmaktadır.

1.1. Ağrı Hakkında

1.1.1. Ağrı tanımı

Uluslararası ağrı araştırmaları derneği ağrıyı, vücudun herhangi bir yerinden başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan, kişinin geçmişteki deneyimleri ile ilgili, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu olarak tarif etmiştir.

1.1.2. Ağrının sınıflandırılması

Ağrı kavramı çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır; yine IASP taksonomi alt komitesi ağrıyı beş eksenli taksonomi şeklinde, eksen bazında tanımlamıştır. Buna göre 1. eksen ağrının vücutta köken aldığı yer ile ilgilidir. 2. eksen ağrının etkilediği sistemleri, 3. eksen oluşum süresini ele almaktadır. 4. eksen hastanın ifadesi ile ağrının şiddeti ve başlangıcından bu yana geçen süreyi, 5. eksen ise ağrının etyolojisini belirtir (Aydın, 2002).

Ağrı, çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. Bunların her birine daha yakından bakmamız çalışmamız için önemli ve gerekli bir durum olup aynı zamanda da farmakolojik tedavinin etkinliğini arttırma açısından gereklidir.

1.1.2.1. *Süreye göre değerlendirme*

Akut ağrı, genellikle ani başlar ve iyi lokalize edilir. Travmatik yaralanmalar, cerrahi girişim ya da tıbbi hastalıklar sonucu oluşur. Akut ağrı, bir uyarı sinyali olarak da kabul edilir ve biyolojik bütünlüğü korumaya yönelik olarak sempatik sinir sistemini aktive edebilir. Akut ağrının belirti ve bulguları; hastanın kendi ağrı bildirimi, taşikardi, hipertansiyon, hipotansiyon, taşipne, yüzeyel solunum, ajitasyon ya da huzursuzluk, yüz buruşturma olarak bildirilmiştir. Ancak, bazı hastalarda yaşam bulguları normal olabilir. Akut ağrının yeterince tedavi edilmediği belirtilmektedir. Oysa yetersiz ağrı kontrolü kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal, metabolik ve nöroendokrin sistem sorunları ile lipoliz ve kas protein yıkımını içeren stres yanıta yol açabilir (Aslan, 2005).

Kronik ağrı, önceleri 3 aydan 6 aya kadar uzanan ya da beklenen iyileşme sürecini aşan bir ağrı biçimi olarak tanımlanmıştır. Ancak yapılan yeni çalışmalar kronik ağrı sürecinin akut ağrıdan farkının yalnızca süre olmadığını ortaya koymaktadır. Kronik ağrı, inatçı ağrı

olarak da tanımlanmış olup bireyin uyku kalitesi ve normal yaşamını da etkileyerek, ağrının koruyucu niteliğinden sıyrılıp kişinin sağlığını ve işlevsel kapasitesi olumsuz etkileyen bir acı şekline dönüşmüştür. Bu nedenle akut ağrıda olduğu gibi belli bir uyarı niteliği taşımamaktadır. Nosiseptif ya da nöropatik kökenli olabileceği gibi her ikisi de aynı anda kronik ağrı ağrı etkeni olabilir. Öte yandan yaralanmalar (cerrahi müdahale ya da travma vb.) ve malign ya da hayati tehlike yaratmayan çeşitli kronik koşullar (artrit, fibromiyalji ve nöropati) da kronik ağrıya neden olabilmektedir. (Berry vd., 2001)

1.1.2.2. *Ağrı bölgesine göre değerlendirme*

Bölgesel sınıflandırmada hem hasta hem de hekim ağrıyı baş ağrısı veya bel ağrısı gibi anatomik olarak sınıflarlar.

1.1.2.3. *Etyolojisine göre değerlendirme*

Ağrının sebebine göre yapılan sınıflandırmadır. Örneğin kansere, sistemik hastalıklara veya uygulanan tedaviye bağlı olarak ortaya çıkabilir. Ancak daha önceden var olan veya halen var olan kanser dısında bir neden de bu tip bir ağrıya yol açabilir.

1.1.2.4. *Patofizyolojik özelliklere göre sınıflandırma*

Ağrı, altında yatan patafizyolojik süreçlere göre nosiseptif ağrı ve nöropatik ağrı olacak şekilde ikiye ayrılmaktadır.

1.1.2.4.1. *Nosiseptif ağrı*

Nosiseptif ağrı, A delta ve C sinir liflerinin zararlı uyaranlar ile aktive olmasından kaynaklanmaktadır. İç organlarda oluşan ağrı visseral ağrı şeklinde tanımlanırken deri, kas, eklem kapsulleri ve kemiklerden köken alan ağrılar somatik ağrı şeklinde tanımlanır. Somatik ağrı da yüzeysel ve derin somatik ağrı gibi alt dallara ayrılabilmektedir. Nöropatik ağrılarda gözlenenin aksine nosiseptif ağrılarda sinir sisteminin çalışmasında herhangi bir problem gözlenmez. Ağrı algısı ve uyaran arasında sıkı bir ilişki vardır.

Nosiseptif ağrı, gerçekleşmiş ya da gerçekleşme potansiyeli olan doku hasarı için önemli bir göstergedir. Farklı doku tiplerinde oluşan ağrıların farklı özellikleri ve farklı göstergeleri olduğu ifade edilmiştir. Yüzeyel somatik ağrı, iyi lokalize, keskin, iğnelenme ve

yanma hissi veren bir ağrı tipi olarak tanımlanırken, derin somatik ağrı yayılmış, hafif ve sızlama biçimindedir. Visseral ağrı duyusu ise derin kramplar ile karakterize edilmiştir. (Berry vd., 2001)

1.1.2.4.2. *Nöropatik ağrı*

Nöropatik ağrı, periferik veya santral sinir sisteminden kaynaklanan ve ilgili nöral yapıların innerve ettiği bölgelerde hissedilen ağrılara verilen genel isimdir. Periferik veya santral sinir sisteminin bir kısmının zedelenmesi, fonksiyonunun bozulması veya uyarılabilirliğinin değişmesinin nöropatik ağrı oluşumu ile ilişkili bulunduğu ifade edilmiştir. Nöropatik ağrının nosiseptif ağrıdan en belirgin farkı sürekli bir nosiseptif uyaranın bulunmamasıdır. Sorunu başlatan bir fonksiyon bozukluğudur ve bu durum diyabet, immün yetmezlikler, enflamatuar süreçler, malign, travmatik ve iskemik durumlar gibi, periferik ya da santral nedenlerden de köken alabilir. Nöropatik ağrı hasardan veya oluşan hasarın şiddetinden bağımsız olarak devam edebilir ve hatta haftalar, aylar, yıllar içinde şiddetlenebilir. Ağrının yanlış tanımlanması, yanlış lokalize edilmesi, algılamanın gecikmesi ve yayılma söz konusu olabilmektedir (Yücel vd., 2005).

Nöropatik ağrı uyarandan bağımsız, spontan bir ağrı olarak ortaya çıkabildiği gibi, hipersensitivite sonrası ya da sensoryal nöronların değişikliği sonrasında uyarana bağlı olarak da oluşabilir. Sinir hasarını takip eden dönemde birtakım moleküler olaylar zinciri gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalarda, sürekli ağrılı uyarana maruz kalma sonucunda sinirsisteminde, ağrılı uyaranın alg›lanması ile ilgili, normalden sapmaların ortaya çıktığı gösterilmiştir. Sinir sistemindeki bu plastisite periferik nosiseptörlerden spinal korda, hatta beynin korteksine kadar gösterilmiştir. Bu değişikliklerin anlamı ve önemi konusunda araştırmalar devam etmektedir; bu dinamik sürece ait bilgilerimizin artması nöropatik ağrının daha iyi anlaşılması ve tedavi yollarının netleşmesi açısından anahtar öneme sahiptir.

Nöropatik ağrının doğru tanısı doğru tedaviyi sağlamaktadır. Tanı aşaması için ilk basamak ağrının yerini, şiddetini, niteliğini, süresini, yarattığı fiziksel ve psikolojik maluliyeti, ağrıyı arttıran ve azaltan faktörleri belirlemektir. Tanıda ağrının nöroanatomik dağılımı da önemli rol oynar (Yücel vd., 2005).

1.1.3. Ağrı duyusunun algılanması

Ağrının algılanması, ağrıya hassas nosiseptörlerin aktivasyonu veya hasar görmüş dokudan salınan mediyatörler tarafından, medulla spinalise afferent transmisyon ve dorsal boynuz üzerinden yüksek merkezlere ileti aşamaları ile gerçekleşir.

Ağrı; transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon olmak üzere dört aşamada algılanır. Transdüksiyon termal, kimyasal ve mekanik zararlı uyaranların nosiseptörler olarak tanımlanan algılayıcı reseptörlerce elektriksel uyarılara dönüştürüldüğü aşamadır. Transmisyon, elektriksel sinyale dönüşen uyaranın periferden merkeze iletildiği aşamadır. Modülasyon, inhibitör inici yolak ve kolaylaştırıcı girdiler ile nosiseptif iletimin spinal cord düzeyinde modifiye edildiği aşamadır. Persepsiyon, elektriksel uyaranların merkezi sinir sisteminin yüksek yapılarına ulaştığı ve ağrının hissedildiği nihai aşamadır (Berry vd., 2001).

Elektriksel uyaranların transmisyon ve modülasyon aşamalarında bazı önemli yolaklar mevcuttur. Bunlar nosiseptif çıkıcı sistemler ve nosiseptif inici sistemler olarak adlandırdığımız nöral bağlantılardır.

1.1.3.1. *Antinosiseptif inici sistemler*

Geçtiğimiz yarım yüzyıl boyunca yapılan çok sayıda araştırma, orta beyin ve medüller bölgelerin aktivasyonunun, nosisepsiyon üzerinde iki yönlü kontrol uygulayabileceğini göstermiştir. Periaqueductal gri bölge (PAG), daha yüksek beyin merkezlerinden girdiler alır ve güçlü bir analjezik etkiyi aktive edebilir. Rostroventromedial medulla (RVM) ise nosiseptif girdilerin iletimini hem kolaylaştırabilir hem de inhibe edebilir ayrıca inici ağrı yolağının kontrolünde son bir düzenleyici görevi görür. PAG'a uygulanan opioidler ve elektriksel uyaranlar sonucunda beyinde analjezik inhibisyonun ilk gösterildiği bölge burası olmuştur, devamında inici sistemlerin merkezinin PAG olduğu da belirlenmiştir. Ancak PAG'a ek olarak, RVM ayrıca talamustan, parabrakiyal bölgeden ve noradrenerjik locus coeruleus'tan da girdiler alır ve spinal dorsal boynuzlara ve trigeminal boynuzlara yansıyan ağrı modülasyonunda son ortak düzenleyici olarak kabul edilir. PAG'dan, Nükleus Raphe Magnus'a (NRM) inen yolda enkefalinler, NRM'dan omurilik arka boynuzuna inen yolda ise noradrenalin ve serotonin ana nörotransmiterlerdir (Aydın, 2016).

1.1.3.1.1. *Seratonin ve inici sistem*

RVM, ana serotonerjik nükleuslar olan NRM ve NpGC'nin yanı sıra hepsi omuriliğe inici projeksiyon gösteren GABAerjik ve Glisinerjik nöronları da içermektedir. RVM kökenli inici projeksiyon aktivasyonunun ya doğrudan projeksiyonların terminallerinden ya da spinal internöronların, spinal dorsal boynuzlarında serotonin salınımını sağladığını gösteren kanıtlar sunulmuştur. Ancak serotoninin etkisi aktifleşen serotonin reseptör alt tipine göre değişilik göstermektedir. 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} ve 5-HT_7 reseptörlerinin aktivasyonunun antinosiseptif etki oluşturduğu, 5-HT_{2A} ve 5-HT_3 reseptörlerinin ise nosisepsiyonu teşvik eden etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Aydın,2016).

1.1.3.1.2. *Noradrenalin ve inici sistem*

İnici noradrenarjik projeksiyon, A5-A6-A7 bölgelerinden köken alırken PAG ve RVM ile de bağlantılıdır. PAG ve RVM ile bağlantılı oluşları noradrenerjik projeksiyonları inici sistemin önemli birer parçası kılmaktadır. Çeşitli hayvan çalışmalarında noradrenerjik çekirdeğe uygulanan kimyasal ya da elektriksel uyaranların beyin-omurilik sıvısına noradrenalin salgılanmasına yol açtığını ve buna bağlı olarak da α2-adrenerjik reseptör antagonistleriyle engellenebilen ağrı inhibisyonu gerçekleştirilebilidğini gösterilmiştir.

Spinal α2-adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu presinaptik ve postsinaptik olarak nosisepsiyon iletimini inhibe edebilmektedir. Spinal nöronlara α2-adrenjerjik agonist uygulandığında güçlü antinosiseptif etki oluştuğu gözlenmişken bunun aynı zamanda opioidlerle sinerji gösterdiği de ifade edilmiştir. α1-adrenerjik reseptör aktivasyonu ise bu etkilerin tam tersi bir yönde etki göstermektedir (Aydın,2016).

1.2. Ağrının Doğal Tedavisi

Bilim insanları, kullanımda olan standart analjezikler kadar etkinliğe sahip ancak tolerabiltiesi daha yüksek yeni ilaçlar geliştirmek istemektedirler. Bu sebeple yeni bir ilaç molekülü geliştirmek için en sık başvurulan yollardan biri doğaya yönelmektir. Bitkilerin sekonder metabolitleri olan terpenoidler, alkaloidler, fenolik bileşenler vb, birçok çalışmaya konu olmuşlardır. Fenolik bileşenler içinde değerlendirilen flavonoidler bu araştırmalar içinde büyük yer kaplamaktadır. Polifenol bileşikleri arasındaki en geniş grup olan

difenilpropanlar ile kimyasal yapı bakımından benzerlik göstermektedirler. İki benzen halkası ve oksijen içeren bir piren halkasının birleşimiyle oluşan flavan çekirdeği ihtiva etmektedirler. Bitkilerde genellikle şeker molekülü içeren glikozit formunda bulunmakla beraber daha az oranda aglikon formda da bulunabilmektedirler. Günlük yaşamda tükettiğimiz birçok bitki flavonoidler için kaynak konumundadır. Bunlar içinde narenciye meyveleri, kuşburnu, kayısı, vişne, üzüm türleri, elma, kuş üzümü yaban mersini, soğan, yeşil biber, brokoli, domates, ıspanak, kırmızı şarap, kahve, çay, soya ürünleri ve baharatları sayabiliriz (Güven vd., 2010).

Öncelikle metabolizma sonucu oluşan reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) flavonoid bileşikleri tarafından üretimlerinin engellendikleri ya da nötralize edildikleri keşfedilmiştir. DNA, lipidler veya proteinler ile etkileşerek yapılarını bozabilen ROS'nin nötralize edilmesi hücrenin mevcut yaşamını sürdürebilmesi ve görevlerini icra edebilmesi açısından önemlidir. Diğer yandan kanser ve kardiyovasküler hastalıklara çoğu tabloda prooksidan hasarın eşlik ettiği gösterilmiştir. Buna bağlı olarak hastalıkların önlenmesinde antioksidanların kullanımı gündeme gelmiştir. Flavonoidler eksojen antioksidanların önemli bir kısmını ihtiva etmektedirler. Yapıca lipofilik olmalarına rağmen diğer bir önemli antioksidan olan a-Tokoferol'e göre daha hidrofiliktirler. Sulu peroksil radikallerini yakalayarak lipit yapılı peroksil radikallerine a-Tokoferolden daha hızlı etki ederler. Flavonoid alımı bu sayede a-Tokoferol'ün tüketimini engellemiş olur. Diğer bir lipofilik antioksidan olan askorbik asit ile beraber 3'lü şekilde sinerjizma gösterir ve birbirlerini rejenere ederler. Ancak etki yelpazesi antioksidan etki ile sınırlı değildir. Antiinflamatuar, antiviral, antitümoral, antitrombotik, antiallerjik, kardiyoprotektif, vazodilatör ve immunositokimyasal etkileri de gösterilmiştir (Kahraman vd., 2002).

1.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan ve bitkilerde bulunan düşük molekül ağırlıklı doğal bileşikler olarak tanımlanmıştır. Yüzyıllardan beri renk verici bitki pigmentleri olarak bilinmiş olmarına rağmen önemli biyolojik aktivitelerine ilişkin ilk çalışma da Szent-Gyorgyi vd., (1936) tarafından gerçekleştirilmiştir. İskorbüt hastası kobayları biber ve turunçgil kabuklarından elde ettikleri preparatlarla tedavi etmiş ve tedavi

sonucunda iyileştirmişlerdir. Bitkilerde sekonder metabolit olarak bitki yaşamıyla ilgili birçok işlevden sorumludur. İnsan diyetinde karşılaşılan en yaygın fenolik bileşiklerdir ve şu ana kadar 5000'den fazla farklı flavonoid bileşiği tanımlanmıştır (Atınç ve Kalkan, 2018).

1.2.1.1. *Flavonoidlerin yapısı*

Yapılarında 15 C'lu 2-fenil benzopiron iskeleti (C6-C3-C6) bulundurduklarından flavonoidler, polifenolik bileşenler olarak da tanımlanmaktadırlar. Flavan çekirdeği ile karakterize edilebilen bu bileşiklerin iki benzen halkasının (A ve B) oksijen içeren bir piren halkası (C) ile bağlanması ile oluştuğu ifade edilmiştir. A halkasının glikoz metabolizması sonucu oluşan asetil koenzim A'dan oluşan malonil koenzim A'nın 3 molekülünün kondenzasyonu ile oluştuğu, B ve C halkalarının da yine glikoz metabolizması sonucu oluşan şikimik asit üzerinden sinnamik asit gibi fenil propanoid bileşiklerinden oluştuğu ifade edilmiştir (Kahraman vd., 2002).

1.2.1.2. *Sınıflandırılmaları*

Bu iskelet yapısındaki birtakım değişikliklere bağlı olarak da flavonlar, flavanoller, flavononlar, izoflavonlar, flavan-3-oller ve antosiyanidinler gibi alt sınıflara ayrılmaktadırlar. Flavonollere; kateşin, epikateşin, epigallokateşin, flavonlara; chrysin, apigenin, rutin, luteolin ve luteolin glikozitleri, flavanollere; kaempferol, quercetin, myricetin ve tamarixetin, flavanonlara; naringin, naringenin, taxifolin ve hesperidin, izoflavonlara; genistin ve daidzin, antocyanidinlere; apigenidin ve cyanidin bileşikleri örnek verilebilir (Kahraman vd., 2002).

1.2.1.3. *Gıdalarla alımları ve biyoyararlanımları*

Pek çok gıda kaynağı flavonoid içermektedir. Temel kaynakları, meyveler (narenciye meyveleri, kuşburnu, kayısı, vişne, üzümler, elma, kuşüzümü, yaban mersini), sebzeler (soğan, yeşil biber, brokoli, domates, ıspanak), içecekler (kırmızı şarap, kahve, çay), kahve çekirdeği, soya ürünleri ve baharatlardır (Atınç ve Kalkan, 2018).

Flavonoidlerin, bitkilerde genellikle glikozit formları halinde bulunduğu ve aglikon formlarına daha az rastlandığı yapılan araştırmalarla tespit edilmiştir. Flavonoid aglikonlarının farklı hidroksil gruplarına en az 8 ayrı monosakkarit veya bunların birleşmesi

ile oluşan disakkarit ya da trisakkaritlerin bağlanması sonucu glikozit formda bileşikler ortaya çıkmaktadır (Güven vd., 2010).

Flavonoidlerin günlük tüketimi hakkında yapılan araştırmalarda, ABD vatandaşı bireylerde bu miktarın 1.0-1.1 g/gün arasında değiştiği, Sampson ve ark. tarafından yapılan başka bir araştırmada yine ABD vatandaşlarında sadece flavanol ve flavon alım miktarının erkek ve kadınlar için 20 mg ve 22 mg/gün olarak ölçüldüğü ifade edilmiştir. Hertog ve ark. tarafından Hollanda'da yapılan başka bir çalışmada bu miktar 23 mg/gün olarak gösterilmiştir. Danimarka için belirlenen flavonol, flavon ve flavonon alım miktarı ise 28 mg/gün olarak rapor edilmiştir. Son olarak Finlandiya'da yapılan başka bir çalışmada yalnızca flavanon alım miktarının 36.6 mg/gün olduğu rapor edilmiştir. Bütün bu verilerdeki değişimin kişilerin beslenme alışkanlığı ve yukarıda bahsettiğimiz gibi bitkilerin flavonoidleri oluşturma şartlarıyla ilişkili olduğunu görebiliyoruz (Güven vd., 2010).

Flavonoidlerin in vitro olarak incelenen biyolojik özellikleri ile in vivo biyoaktiviteleri arasında önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, flavonoidlerin sağlık üzerindeki etkileri değerlendirilirken, emilimi, biyoyararlılığı ve metabolizması hakkındaki bilgilerin önemine vurgu yapılmaktadır. Flavonoid glikozitler bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılmakta iken, aglikonlar hücre membranlarından serbestçe geçebilmekte olduğu bildirilmiştir. Emilen flavonoidler, karaciğere taşındıktan sonra çeşitli metabolik reaksiyonlara maruz kalarak glukuronitler, sülfatlar ve metillenmiş türevleri gibi çeşitli konjugasyon formlarına dönüşmektedir. Bazı çalışmalarda, flavonoidlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden bu konjugatların sorumlu olduğu ortaya konulmuştur (Güven vd., 2010).

1.2.1.4. *Biyolojik aktiviteleri*

Araştırmalar flavonoidlerin, antioksidan, antikanser, antiviral, antidiyabetik, antialerjik, antiinflamatuar, antinosiseptif ve nöroprotektif etkileri olduğunu göstermektedir. Yine bu araştırmalarda flavonoidlerin en fazla kardiyovasküler sistem hastalıkları ve kanser vakaları üzerindeki etkilerine yoğunlaşıldığı dikkat çekmektedir (Atınç ve Kalkan, 2018; Kahraman vd., 2002; Fernandes vd., 2017; Maaliki vd., 2019; Beretz vd., 1982; Jennins vd., 2017).

1.2.1.4.1. *Antioksidan aktivite*

İnsan yaşamı için olmazsa olmaz bir öneme sahip oksijenin, normal metabolizma sürecinde üretilen bazı reaktif türleri (ROS), vücuda ciddi derecede zarar verme potansiyeline sahiptir. Metabolizmada en fazla meydana gelen ROS'lar, singlet oksijen, süperoksit radikali, hidrojen peroksit radikali, hidroksil radikali ve nitrik oksit türevleri gibi aşırı reaktif bileşiklerdir. Metabolizasyon sonucunda ortaya çıkan bu reaktif bileşiklerin kardiyovasküler sistem hastalıkların ortaya çıkışı ve gelişimi sürecinde önemli göstergeler olarak ifade edilmişlerdir. Flavonoidler, ROS oluşumuna veya süpürülmesine yardımcı bileşiklerdir ve bunu da çeşitli şekillerde yapmaktadırlar. Flavonodilerin:

1) Süperoksit ve hidroksil radikalleri ile singlet oksijeni yakalamak,

2) Peroksil ve alkoksil radikallerini yakalamak, lipid peroksil zincirini kırmak,

3) Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini inhibe etmek,

4) Demir ve bakır gibi geçiş metalleri ile şelat yapmak,

5) Kalmodulini inhibe etmek,

6) Protein kinaz inhibisyonu yapmak,

7) Laktat transportunu engellemek suretiyle antioksidan etkilere yol açtıkları bildirilmiştir (Kahraman vd., 2002).

Flavonoidler lipofilik antioksidanlardir fakat yine lipofilik bir antioksidan olan alfa tokoferole gore daha hidrofiliktirler. a-tokoferolün kroman halkasi membran fosfolipitlerinin ester karbonil gruplarıyla hidrojen bağ yaparak membranda lokalize olurken daha hidrofilik olan flavonoidler ise membranın polar yüzüne yakın şekilde lokalize olmaktadırlar. Böylece sulu peroksil radikallerini kolayca yakalayarak lipit peroksil radikallerine a-tokoferolden daha hızlı sekilde etki etmektedir. Flavonoid alımı bu sekilde a-tokoferol tüketimini engellemektedir. Yine lipofilik bir antitoksidan olan askorbik asit membranın polar yüzüne lokalize olarak antioksidan aktivitesini göstermektedir. Membran icindeki serbest radikaller bu üç antioksidan tarafindan temizlenmektedirler. Bu antioksidanların serbest radikaller üzerindeki etkilerinin sinerjik oldugu bildirilmiştir. Bir flavonol olan quercetin ve askorbik

asit a-tokoferol radikalini regenere etmektedir. Askorbik asit quercetin radikalini de rejenere etmektedir. Olusan askorbil radikalide redükte glutatyon (GSH) tarafindan askorbat'a dönüştürülür. Quercetin radikali GSH tarafından da rejenere edilmektedir. Quersetin'in askorbik asit ve a-tokoferol'den daha güçlü bir antioksidan oldugu ileri sürülmektedir (Kahraman vd., 2002).

1.2.1.4.2. *Diğer etkiler*

Flavonoidler; en çok antioksidan özellikleri ile tanınsalar da daha önce bahsettiğimiz gibi antikanser, antiviral, antitrombotik, antidiyabetik, antialerjik, antiinflamatuar, antinosiseptif ve nöroprotektif etkileri ile de son yıllarda oldukça önemli hedefler haline gelmişlerdir (Atınç ve Kalkan, 2018; Kahraman vd., 2002; Fernandes vd., 2017).

Maaliki vd., (2019) tarafından yapılan çalışmalarda düzenli flavonoid alımı ile kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkışı ve ilerlemesi arasında zıt bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu ilişki özellikle antosiyanidin alımı ile miyokard infarktüs riski, flavanon alımı ile iskemik stroke riski ve flavonol alımı ile tip 2 diyabet riski arasındaki bağlantı ile ifade edilmiştir. İnsanlarla yapılan çalışmalarda kateşin ve quersetin uygulandığında kan basıncının da önemli ölçüde düştüğü gözlemlenmiştir. Bu bileşikler nitrik oksitin biyoyararlanımı arttırmak, endotelyal hücrelerdeki oksidatif stresi azaltmak ya da vasküler iyon kanal aktivitesini düzenlemek suretiyle bu etkilere yol açmaktadırlar.

Beretz vd., (1982) yürüttüğü çalışmada kırmızı şarapta bulunan bazı polifenollerin trombosit agregasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Trombositler, kandaki önemli elementlerdir çünkü ateroskleroz gelişiminde olduğu gibi trombozun başlamasında da etkilidirler. Diyabet, hipertansiyon ve sigara kullanımına bağlı olarak kanda bulunan trombosit aktivitesinin artış gösterdiği ifade edilmiş olup buna bağlı olarak da trombosit agregasyonunu azaltmak için kırmızı şarapta doğal olarak bulunan ve önemli kısmı flavonoidlerden oluşan polifenollerün, aterosklerozun önlenmesinde büyük öneme sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Beretz ve ark., quercetin ve kateşinin trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar geniş bir bileşik skalasını incelemiş ve C-2, C-3 çift bağının doyması, C-4 karbonil eksikliği, C-3'te glikozilasyon ve yüksek hidroksil sayısının bu etkileri azalttığını belirtmişlerdir.

Başka epidemiyolojik çalışmalarda da kanser riskini düşürmesi yönüyle flavonoid bileşiklerinin önemini gösterilmiştir. Hücre kültürü çalışmalarında flavonoidlerin, kinaz aktivitesiyle apoptosiz indüksiyonu ve proliferasyon inhibisyonu gibi çeşitli antikanser etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır.

Antiproliferatif ve antioksidan olan, apoptozu indüklemesi yönüyle dikkat çeken hesperetin, narenciye türlerinde bulunan ve flavonoid grubu bileşiklerinden olan bir flavanondur. Hücre aktivasyonunda narenciye flavonoidlerinin birçok farmakolojik özellikleri tirozin kinaz gibi enzimleri inhibe etmesiyle ilişkilendirilebilir. Antikanser etkilerini; apoptoz, seçici sitotoksisite ve antiproliferatif eylemler aracılığıyla sergilemektedir. Akdeniz diyetinin, yani ılımlı şarap tüketimi gibi genel yönleri, sadece kardiyovasküler hastalıklar üzerinde değil, aynı zamanda birçok kanserde de koruyucu etkilerle veya düşük insidansla ilgilidir. Çok sayıda antikanser tedavisi şu anda klinik kullanımda olmasına rağmen, yeni kanser vakalarının yanı sıra ölüm oranı halen endişe verici derecede yüksektir. Kanserin moleküler biyolojisinin anlaşılmasındaki ilerleme ile birlikte, hücresel homeostazın bozulduğu açıktır. Bu değiştirilmiş hücre sinyal yollarının birçoğu, flavonoidler gibi kemopreventif bileşiklerle normal duruma geri döndürülebilir ve geri yüklenebilir. Karsino-koruyucu ajanlar olarak işlev gören flavonoidlerin farklı mekanizmaları tarif edilmiştir (Atınç ve Kalkan, 2018).

Yakın zamanlarda yapılan çalışmalar flavanoidlerin tüm bu özelliklerinin yanında ayrıca antidiyabetik ve obezite karşıtı etkilerini de ortaya koymaktadır. Jennins vd., (2017) yaptığı çalışmada 2734 kadının kesitsel analizleri, antosiyaninlerin ve flavonollerin daha yüksek alımı, daha düşük yağ kütlesi ve azalmış merkezi adipoziteyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışma ise alışılmış çay tüketimi (10 yıl için ortalama 434 mL/gün), daha önce hiç çay tüketilmemesiyle karşılaştırıldığında düşük vücut yağı ve bel çevresi ile ilişkilendirilmiştir.

Yine başka bir çalışmada kırmızı şarapta bulunan bazı polifenollerin beyindeki proteinlerle ilişkili olmasına bağlı olarak nöroprotektif etkilere aracılık ettikleri gösterilmiştir. Nörodejeneratif hastalıklar açısından bakıldığında bahsi geçen bu polifenollerin, Alzheimer hallmark-β-amiloid proteini (Aβ) ile etkileşime geçerek fibril ve

agregat oluşumunu engellediğinden de bahsedilmektedir. Buna örnek olarak gallik asit ve kateşin bakımından zengin üzüm çekirdiği ekstaratının düşük çözünürlüklü ve yüksek molekül ağırlıklı Aβ kaynaklı bilişsel bozulmaları inhibe etmesi verilebilir. Etki mekanizmaları hakkında ise birkaç sav ileri sürülmüştür. Bazı çalışmaların sonucunda metalleri şelatlayarak ya da toksik olmayan oligomerlerin oluşumunu destekleyerek amiloid agregasyonunu ve fibrilasyonu inhibe ettiği böylece de Aβ plağına bağlı patolojik durumları azalttığı düşünülmüştür (Fernandes vd., 2017).

Polifenollerin olası bir başka biyolojik katkısı, antialerjik etki ile ilgilidir. Polifenollerin proteinlerle etkileşimi, alerjik duyarlılık sürecini ve bunların alerjik semptomlara doğrudan etkilerini değiştirebilir. Kafeik, ferulik ve gallik asit gibi bazı fenolik asitlerin, potansiyel olarak alerjenik proteinlerle çözünmeyen kompleksler oluşturma kabiliyeti, proteinleri hipoalerjenik hale getirebilir (Fernandes vd., 2017).

Polifenollerin antimikrobiyal aktivitesi bulaşıcı hastalıklara karşı yararlıdır. Örneğin iddia edilen anti-HIV aktivitesi, ters transkriptaz, proteinaz ve integraz gibi enzimlerin inhibisyonundan ve CD4 reseptörlerinin inhibisyonundan kaynaklanabilir. Polifenollerin insan ve kuş gribi virüslerine karşı aktivitesi, esasen viral hemaglutininin inhibisyonundan kaynaklanırken, sitomegalovirüs'e karşı aktivite epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin inhibisyonuna ve erken erken protein fonksiyonuna atfedilir (Fernandes vd., 2017).

1.2.2. Kaempferol

Kaempferol, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen, farmakolojik ve nutrasötik özelliklerinden dolayı üzerinde çalışılan bir flavonoiddir. Kaempferol, meyve ve sebzelerde bulunan flavonol sınıfına dahil bir polifenol antioksidandır. Özellikle bol miktarda çay, brokoli, elma, çilek ve fasulyede bulunur. Ayrıca özellikle üzüm (vitis cinsi) bitkisinde 10 çeşit kaempferol bileşiğine rastlanmıştır (Garde vd., 2016; A.Y. Chen ve Y.C. Chen, 2013).

Birçok çalışma, diyet kaempferol'ün, özellikle kanser olmak üzere kronik hastalık riskini azaltmadaki yararlı etkilerini ortaya koymuştur. Epidemiyolojik çalışmalar da kaempferol alımı ile kanser arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir. Kaempferol, kanser gelişme ihitmalini arttıran serbest radikallere karşı antioksidan savunmasını

güçlendirmektedir. Moleküler düzeyde, apoptoz, anjiyogenez, inflamasyon ve metastazla bağlantılı hücresel sinyal iletim yollarında bir dizi ana elemanı modüle ettiği bildirilmiştir (A.Y. Chen ve Y.C. Chen, 2013).

Çalışmalar ateroskleroz ve kardiyovasküler bozuklukları azalttığını ve aynı zamanda antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğunu da göstermektedir. Kaempferolün aynı zamanda in vitro ortamda inflamatuvar cevabı baskıladığı gösterilmiştir. Bunu yalnızca ROS'u süpürerek değil NF-kB ve AP-1 aktivasyonu yapan src, syk, IRAK1 ve IRAK2'yi direkt olarak inhibe ederek de sağladığı açığa çıkartılmıştır. Bu mekanizma kronik inflamasyon ve kanser ile sıkı bir ilişki içindedir (Garde vd., 2016).

Kıvranma ve formalin testleri kullanılarak kaempferol 3-O-rutinosid ve kaempferol 3-O-glucosidin analjezik etkileri incelendiğinde her iki testte her iki maddenin de analjezik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Wang vd., 2014). *Chiliotrichum diffusum* çiçeklerinden elde edilen ekstre ile yapılan çalışmalarda kıvranma ve sıcak plaka testlerinde analjezik etki gözlenmiştir. Ekstrenin incelenmesi sonucunda içeriğinde kaempferolünde bulunduğu belirlenmiştir (Bahamonde vd., 2013). Bir başka çalışmada ise *Cistus laurifolius*'tan izole edilen 3,7-O-dimethylkaempferol ile yapılan kıvranma deneyinde antinosiseptif etkisi olduğu ve karregen ile indüklenen pençe ödemi testinde antiinflamatuvar etkisi belirlenmiştir (Küpeli ve Yesilada, 2007).

Streptozotosin aracılığıyla oluşturulan diyabetik nöropati modelinde Eruca sativa tohumlarından izole edilen kaempferolün etkisi incelenmiş ve diyabetik nöropati ve diyabetik nöropatik ağrı tedavisinde kullanılabileceği öngürülmüştür (Kishore vd., 2017). Diğer bir çalışmada kaempferol-3,7-di-O-α-L-rhamnopyranosid bileşiğinin asetik asitle yapılan kıvranma testinde anlamlı derecede analjezik cevaplar verdiği gösterilmiştir (Ali vd., 2017).

1.2.2.1. *Kaempferol ve inflamatuvar sistem*

İnflamatuar cevap, iyileşmeyi kolaylaştırmaya yardımcı olmak için kullanılan yaygın bir vücut sürecidir. İnflamasyon belirtileri, damarlanma ve kızarıklık ve şişme olarak kendini gösteren kan damarı geçirgenliğinin artması ile uyarılır. Yüksek kan akımı, aynı anda orijinal dokuyu yenilerken, ekstra kan hücrelerinin davetsiz misafirleri ortadan kaldırmak için yaralanma bölgesine ulaşmasına izin verir. İnflamasyon, birçok kimyasal haberci salgısının

salgılanmasına dayanan oldukça düzenlenmiş bir süreçtir. Yaralanma alanındaki lökositler, daha fazla beyaz kan hücresi almasına yardımcı olan ve inflamatuar yanıtı destekleyen çok sayıda sitokin salgılarlar. Bu haberciler arasında çeşitli interlökinler ve tümör nekroz faktörleri (TNF'ler) bulunur. Proteinler başka bir lökosite ulaştığında, inflamatuar sinyali ilerletmeye devam eden veya bazı beyaz kan hücrelerinin farklılaşmasını tetikleyen ek proteinlerin sentezini başlatarak transkripsiyon faktörlerini aktive edebilirler. Enflamasyon sıkı bir şekilde kontrol edilmezse, vücut, bağışıklık sisteminin normal çalışan hücrelere saldırdığı romatoid artrit veya Crohn hastalığı gibi tablolarda kendine zarar verebilir. Daha da kötüsü, kronik enflamasyonun, kanser gelişimine yatkınlıkla alakalı güçlü bir bağlantısı olduğu ifade edilmiştir (A.Y. Chen ve Y.C. Chen, 2013).

Bobe vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada flvonoidlerce, özellikle de kaempferol açısından yüksek bir diyetin, inflamatuar bir sitokin olan serum interlökin-6 düzeylerini azalttığı yine aynı çalışmada, IL-6 seviyelerindeki azalmanın ileri adenoma nüksü riskini de azalttığı gösterilmiştir. Bu kanser korelasyonu, inflamasyonun etkileri incelenerek anlaşılabilir. Bir enfeksiyonla karşı karşıya kalındığında, vücut inflamasyon sürecini başlatır ve antimikrobiyaller gibi davrandığı düşünülen serbest radikaller oluşturur. Eşleşmemiş elektronları ile radikaller dengesiz bileşiklerdir, DNA'ya zarar vermeye ve insan yaşlanmasını hızlandırmaya eğilimlidirler. Bu radikal birikimi, sağlıklı hücrelerin kanserli hücrelere dönüşme riskini arttırabilir. Ek olarak, vücudun enflamatuar uyaranlarla tahrip olan hücrelerin yerini alması gerekir. Sonuç olarak, sinyaller hayatta kalan hücrelere yayılır, onları mitoz başlatmaya ve doku tamirine başlamaya teşvik eder. Kalan hücrelerden herhangi biri malign ise, iltihap, büyüyen bir tümör için ideal ortamı yaratacaktır. Çalışmalar, tümörlerin önlenmesinde kortikosteroidler gibi antiinflamatuar ilaçların etkinliğini kanıtlamıştır. Enflamatuar yanıtın kısa devre yaptırılmasının uygulanabilir bir kanser tedavisinin parçası olabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır (A.Y. Chen ve Y.C. Chen, 2013).

Kovalski vd., (2005) çalışmalarında kaempferolün birçok inflamasyon mekanizmasına büyük ölçüde müdahale ettiğini gösterilmiştir. J744.2 makrofajlarında kaempferol ile tedavi, hem interlökin-1 beta hem de tümör nekroz faktörünün (TNF) ekspresyonunu bloke eder. Bu iki sitokin, bazı enzimlerin ve enflamatuar yanıt için önemli olan genlerin aktivasyonunu teşvik eder. Kaempferol, her iki sitokin mRNA seviyesini düşürür, transkripsiyonunu ve

sonraki etkilerini inhibe eder. TNF-alfa ve IL-1B'nin her ikisi de multipl skleroz dahil olmak üzere bir dizi otoimmün rahatsızlığın gelişimi ile bağlantılıdır. Ayrıca, kaempferolün TNF'nin aracılık ettiği operasyonları engelleyici olduğu kanıtlanmıştır. TNF, bir başka iltihap önleyici sitokin olan IL-8'in aktivasyonunu teşvik eder. HEK 293 hücrelerinde, kaempferol, sadece TNF'nin indüklediği IL-8 promotör aktivasyonunu değil, aynı zamanda IL-8 gen ekspresyonunu da bloke etti. IL-8'in, bir kez daha kaempferolün etkilediği çok çeşitli proteinleri sergileyen güçlü bir anjiyogenez geliştirici olduğu bulunmuştur. Ayrıca TNF'nin işlevleri arasında, enflamatuar proteinlerin sentezine neden olan bir transkripsiyon faktörü olan NF-KB'nin aktivasyonu bulunur. Kaempferol uygulaması, NF-κB'nin çekirdeğe göçünü engelledi, böylece gen hedeflerinin indüklenmesini önledi. Son olarak, TNF stimülasyonunun reaktif oksijen türlerinin sayısındaki artışla ilişkili olduğu görülmektedir. Bu moleküller elbette dengesizdir ve DNA'ya zarar verebilir ve muhtemelen malign hücrelere dönüşümü teşvik edebilir. Kaempferol tedavisi normal HEK 293 hücrelerinde ROS üretimini önemli ölçüde düşürdü. Görünürde kaempferol, geniş inflamatuar etki spektrumuna ek olarak TNF düzeneğini de önemli ölçüde engellemektedir (Lee vd., 2008)

IL-4, T hücre farklılaşması üzerindeki etkileri için öne çıkan bir başka inflamatuar sinyal sitokinini temsil eder. Bununla birlikte, daha önce belirtilen tüm interlökinlere benzer şekilde, IL-4, otoimmün hastalık ve inflamasyonun deregülasyonunda rol oynamaktadır. IL-4, etkilerini sitoplazmada bulunan bir tirozin kinaz olan JAK3'ü fosforile ederek gösterir. JAK3, inflamatuar yanıtı gerçekleştirmekle görevli proteinlerin sentezinden sorumlu olan bir transkripsiyon faktörü olan STAT6'yı art arda fosforile eder. Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, kaempferolün, özellikle JAK3 aktivitesini hedefleyerek, bu sinyal yolunu inhibe ettiği bulundu. Kaempferol kullanıldığında JAK3, STAT6 ile ilişkili enflamatuar proteinlerin salgılanmasını etkili bir şekilde bozan STAT6'yı fosforile edemedi. JAK3, bir dizi transkripsiyon faktörünün yukarısında olduğu için, kaempferol, birçok JAK3 tarafından kontrol edilen işlemin altını çizme sözü verdi. Enflamatuar sitokin IL-2 aynı zamanda STAT5'i aktive etmek için JAK3 kullandığından, bir başka transkripsiyon faktörü olduğundan, kaempferol, IL-2 aracılı sonuçların güçlü bir inhibitörüdür (A.Y. Chen ve Y.C. Chen, 2013).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Analjezik Aktivite Deneyleri

2.1.1. Hayvanlar

Deneylerimizde Anadolu Üniversitesi hayvan evinden temin edilecek olan yaklaşık 30-35 g ağırlığında Swiss albino fareler kullanılacaktır. Fareler 12 saat gece/gündüz aydınlatmalı, 18-25°C'de, iyi havalandırılmış odalarda barındırılmaktadırlar. Beslenmeleri verilen standart yem peletleri ve çeşme suyu verilerek sağlanmaktadır. Ayrıca deney hayvanları ile yapılacak çalışmalar için Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan gerekli onaylar alınmıştır (Karar No:2018-49).

2.1.2. Uygulanacak maddeler

Aktivite mekanizmalarının değerlendirilmesi için opioderjik reseptör antagonisti nalokson (5 mg/kg; i.p.) madde enjeksiyonundan 15 dk önce, 5-HT1 antagonisti WAY 100635 (1 mg/kg; i.p.), 5-HT2 antagonisti ketanserin (1 mg/kg; i.p.), 5-HT3 antagonisti ondansetron (1 mg/kg, i.p.), adrenerjik a1 reseptör blokörü prazosin (1 mg/kg, i.p.) ve adrenerjik a2 reseptör antagonisti yohimbin (1 mg/kg, i.p.) kaemferol enjeksiyonundan 30 dk. önce uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak diklofenak ve tramadol (30 mg/kg), çözücü olarak ise %10 DMSO çözeltisi kullanılmıştır (Arslan ve Bektas., 2015; Schreiber vd., 2002).

2.1.3. Sıcak plaka testi (Hot plate testi)

En sık kullanılan termal analjezi ölçüm testlerinden biridir. Hot-plate (sıcak zemin) testi, en sık kullanılan termal analjezi ölçüm yöntemlerinden biridir. Bu test kapsamında kullanılan ve etrafı pleksiglas bir silindir ile sınırlandırılmış olan UGO BASILE (No: 7280) ısı tablası, 56 °C'ye kadar ısıtılır. Hayvanın sıcak zemine bırakıldığı andan, arka ayaklarını çekme, yalama, bacakları üzerinde yükselme veya sıçrama hareketlerinden birinin gözlendiği zamana kadar geçen süre ölçülür.

Ölçümler, hayvanlara hem madde verilmeden önce hem de madde verildikten 35 dk sonra yapılacaktır. Hayvanların ayaklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilme süresi 20 sn olarak belirlenmiştir (Eddy ve Leimback, 1953; Uzbay, 2004).

2.1.4. Tail-immersion testi

Analjezi çalışmalarında sık kullanılan başka bir termal metottur. Hayvanın kuyruğunun ucundan itibaren 3 cm'lik kısmı bir beher içerisinde bulunan 52,5±0,2°C sıcaklığındaki suya daldırılır. Kronometre ile yapılan ölçümler hayvanın kuyruğunun suyun içine daldırıldığı andan, suyun dışına doğru hızlıca çekmesine kadar geçen süreyi kapsar.

Ölçümler, hayvanlara madde verilmeden önce ve madde verildikten 35 dk sonra yapılacaktır. Veriler % maksimum olası etki olarak hesaplanacaktır. Hayvanların kuyruklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilme süresi 15 sn olarak belirlenmiştir (Scmauss ve Yaksh, 1984).

2.1.5. Asetik asit kıvranma testi

Kıvranma testi (asetik asitle indüklenen kıvranma): Kimyasal uyaran kullanılan bir analjezi ölçüm testidir. Deney hayvanlarında güçlü visseral ağrı oluşturmak için asetik asit çözeltisi kullanılacaktır. Asetik asitin intraperitonel olarak uygulanmasını takiben 5 dk sonra karın kaslarında kasılma ile başlayan daha sonra arka ayakların geriye doğru gerilmesi ve karnın yere sürtünmesi ile karakterize kıvranma hareketleri ölçülecektir (Koster vd., 1959).

2.1.6. Lokomotor aktivite

Spontan lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için, pleksiglass, kafes şeklinde olan aktivite kafesi (Ugo Basile 47420) cihazı kullanılacaktır. Cihazın karşılıklı iki dikey kenarında bulunan parçalar kızıl ötesi (Infrared, IR) ışınları üretmekte ve hayvan yatay ve dikey yönlerdeki hareketleri bu ışınları kesintiye uğratmakta ve bu şekilde fotosel yardımıyla kaydedilmektedir. Cihazın elektronik düzeneği ölçülen veriyi önceden belirlenmiş olan aralıklarla kaydetmekte ve yazdırmaktadır (Marazioti vd., 2009). İlaçların injeksiyonundan 35 dk. sonra aktivite kafesine alınacak ve 10 dk. süresince hayvanların lokomotor aktiviteleri ölçülecektir.

2.1.7. Veri analizi

İstatiksel değerlendirme Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi veya çift yönlü varyans

analizi (ANOVA) ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi yapılacaktır. Analiz sonuçları ortalama±standart hata (S.H.) olarak ifade edilecek ve istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak $p<0.05$ kabul edilecektir. Grafiklerin çizimleri için, Graphpad Prism ver. 5.0 programı kullanılacaktır.

2.8. Deney Grupları:

1. Kontrol (%10 DMSO)
2. Kaempferol 25mg/kg
3. Kaempferol 50mg/kg
4. Kaempferol 100mg/kg
5. Kaempferol 200mg/kg
6. Diklofenak 10mg/kg
7. Tramadol 30 mg/kg
8. Nalakson + Çözücü
9. Ketanserin + Çözücü
10. Ondansetron + Çözücü
11. WAY100635 + Çözücü
12. Prazosin + Çözücü
13. Yohimbin + Çözücü
14. Nalokson + Kaempferol (50 mg/kg)
15. Ketanseri + Kaempferol (50 mg/kg)
16. Ondansetron + Kaempferol (50 mg/kg)
17. WAY100635 + Kaempferol (50 mg/kg)
18. Prazosin + Kaempferol (50 mg/kg)
19. Yohimbin + Kaempferol (50 mg/kg)
20. Aktivite kafesi – Kaempferol (50 mg/kg)
21. Aktivite kafesi – Kontrol (%10 DMSO)
22. Kaempferol (50 mg/kg) + Dipiron (10 mg/kg)
23. Kaempferol (25 mg/kg) + Dipiron (5 mg/kg)

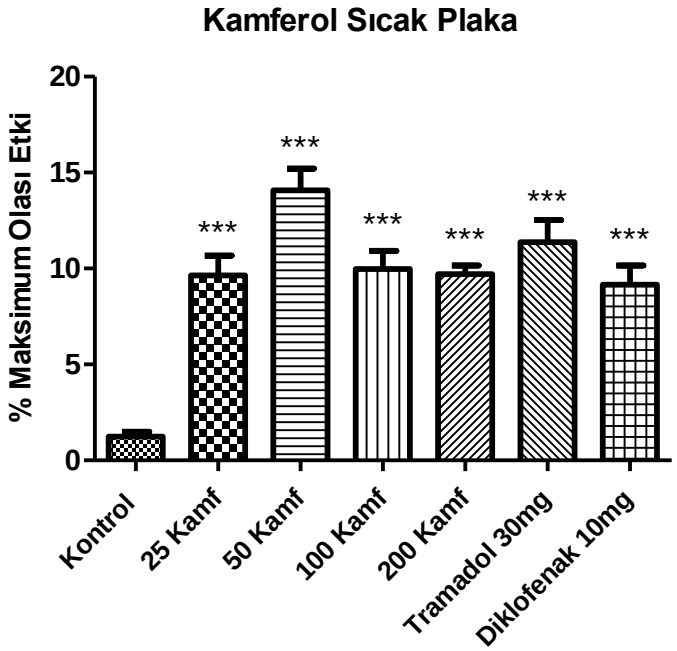
24. Kaempferol (50 mg/kg) + Tramadol (30 mg/kg)
25. Kaempferol (25 mg/kg) + Tramadol (15 mg/kg)

3. BULGULAR

3.1. Kaempferol Uygulanması

3.1.1. Sıcak-Plaka testi

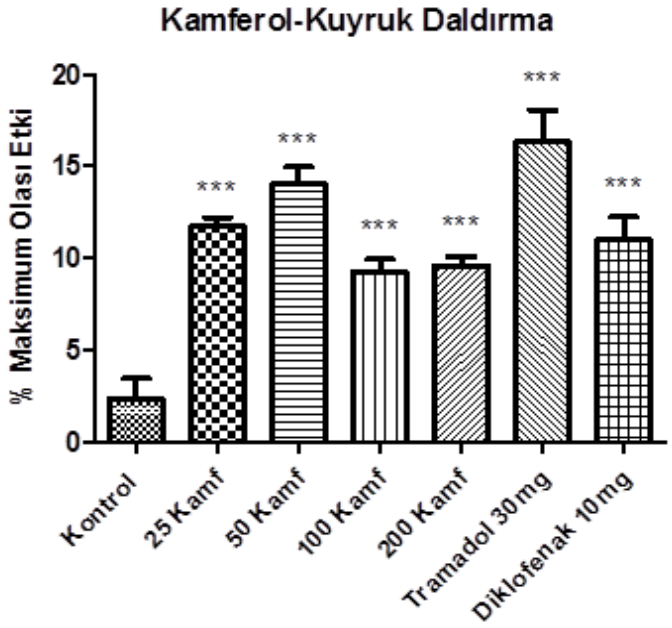
Şekil 3.1.'de kaempferolün 4 farklı dozda olmak üzere (25, 50, 100, 200 mg/kg), tramadol ve diklofenak ile beraber sıcak plaka testinde kontrol grubuna karşı verdiği cevap sürelerine göre ifade edilen yüzde maksimum olası etkisi gösterilmektedir. Uygulanan kaempferol dozlarının sıcak plaka testinde anlamlı antinosiseptif etkileri belirlenmiştir (p<0.001). Kaempferol antinosiseptif etki bakımından diklofenak ve tramodole yakın bir etki göstermiştir (Şekil 3.1.). 50 mg/kg kaempferol uygulamasında elde edilen antinpsiseptif cevabın diğer dozlara göre daha etkili olduğu da görülmektedir.



Şekil 3.1. *Kaempferolün antinosiseptif etkisinin sıcak plaka testinde değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

3.1.2 Kuyruk daldırma testi

Kaempferolün uygulanan 4 farklı dozunda (25, 50, 100, 200 mg/kg) kuyruk daldırma testinde verdiği cevaplar yüzde maksimum olası etki olarak şekil 3.2.'de gösterilmektedir. Uygulanan tüm dozalrda kaemferolün kontrole göre anlamlı etki gösterdiği belirlenmiştir (p<0.001). Yine uygulanan tüm dozlarda elde edilen etki 10 mg/kg diklofenak dozunun gösterdiği etkiye yakın olduğu görülmektedir. Ancak, kaempferol uygulamaları etki bakımından 30 mg/kg tramadolün etkisine ulaşamamıştır. Fakat 50 mg/kg kaempferol uygulanması kuyruk daldırma testinde diğer kaempferol dozlarına göre daha etkili olmuştur.

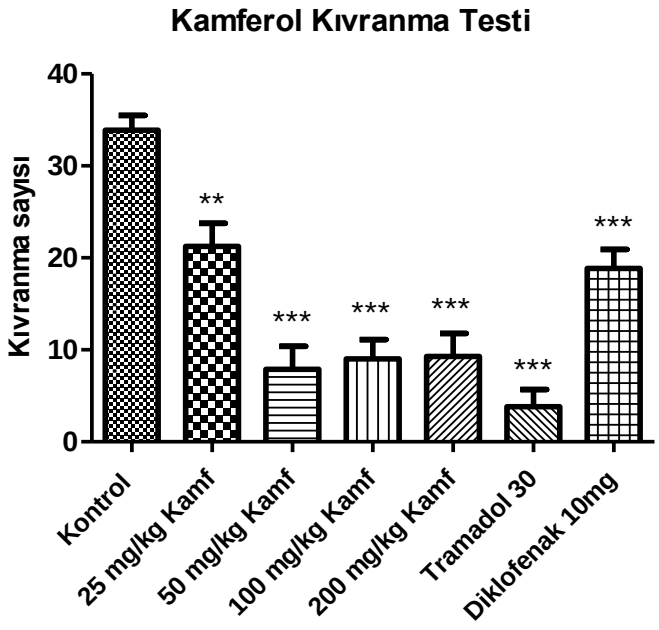


Şekil 3.2. *Kaempferolün antinosiseptif etkisinin kuyruk daldırma testinde değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

3.1.3 Asetik asit ile indüklenen kıvranma testi

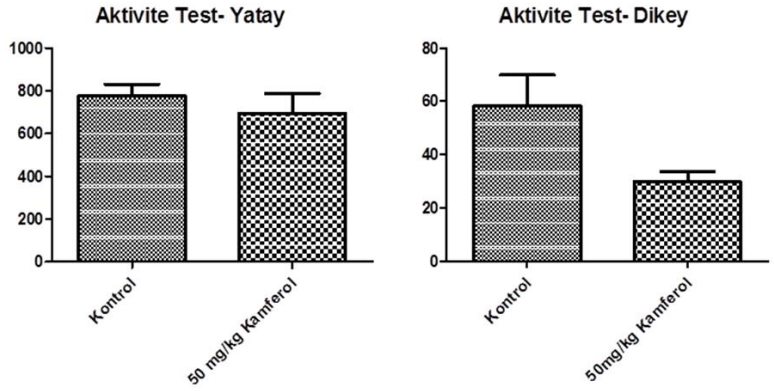
Şekil 3.3.'de 4 farklı dozda kaempferol (25, 50, 100, 200 mg/kg), 30 mg/kg tramadol ve 10mg/kg diklofenak uygulanan deney gruplarında asetik asit ile indüklenen kıvranma testinde kıvranma sayılarındaki anlamlı azalma gösterilmiştir (p<0.001). Uygulanan tüm kaempferol dozları 10 mg/kg diklofenakın etkşsine benzer şekilde kıvranma sayısını

azaltmıştır. Ancak kaempferol uygulamalarının hepsi etki bakımından 30 mg/kg tramdolün gerisinde kalmıştır.



Şekil 3.3. *Kaempferolün antinosiseptif etkisinin asetik asitle indüklenen kıvranma testinde değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, **p<0.01 Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

3.1.4. Lokomotor aktivite testi



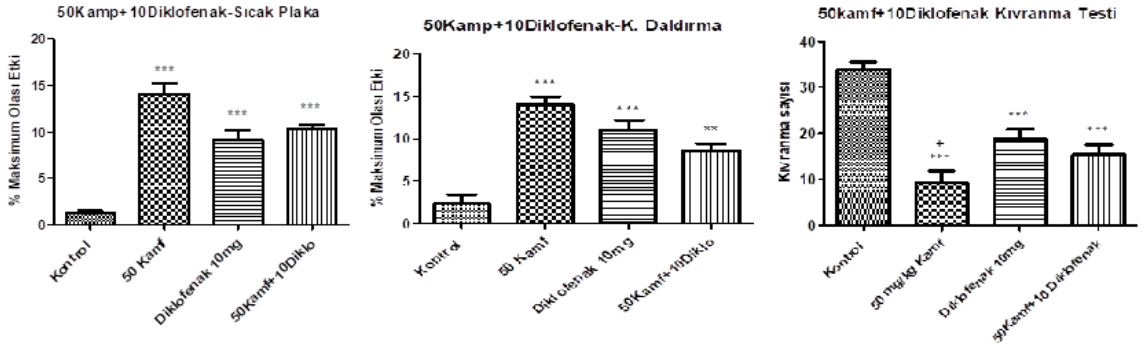
Şekil 3.4. *Kaempferolün lokomotor aktivite testinde yatay ve dikey hareketler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi (n=7-8).*

Şekil 3.4.'de 50 mg/kg kaempferol uygulamasının deney hayvanlarının lokomotor aktiviteleri üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 50 mg/kg kaempferol deney hayvanlarının lokomotor hareketleri üzerinde anlamlı bir etki göstermemiştir.

3.2. Kaempferolün Analjezik Etkinliğinin Diğer Analjezik İlaçlarla Etkileşimi

3.2.1. 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak uygulaması

Şekil 3.5'de sıcak plaka testinde 50 mg/kg kaempferol + 10 mg/kg diklofenakın birlikte uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın tek başlarına uygulandığında oluşturdukları antinosiseptif etkilerin karşılaştırılması gösterilmiştir.



Şekil 3.5 *50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak kombine uygulamasının antinosiseptif etkisinin sıcak plaka testinde, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testinde değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, **p<0.01, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

Sıcak plaka testinde, 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak birlikte uygulandığında kontrole göre anlamlı (p<0.001) bir antinosiseptf etki elde edilmesine rağmen 50 mg/kg kaempferolün tek başına uygulanmasıyla elde edilen etkiye ulaşılamamıştır.

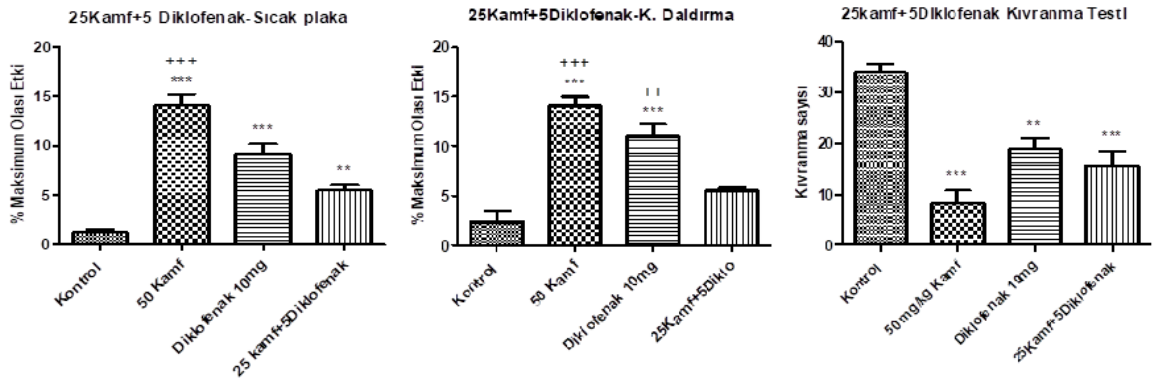
Kuyruk daldırma testinde 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın tek başlarına uygulandığında oluşturdukları antinosiseptif etkileri ile karşılaştırılması verilmiştir (Şekil 3.5.). Bu testte, 50 mg/kg kaempferol+10 mg/kg diklofenak uygulaması sonucu elde edilen antinosiseptif etki kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.01) olmasına rağmen tek başlarına gösterdikleri antinosiseptif etkilere göre görece daha düşüktür.

Şekil 3.5.'de asetik asitle kıvranma testinde 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenağın tek başlarına uygulandığında oluşturdukları etkiyle karşılaştırılmaları gösterilmiştir.

Asetik asitle indüklenen kıvranma testinde, 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenak uygulaması kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir antinosiseptif etki görülmekle birlikte tek başına 50 mg/kg kaempferol'ün gösterdiği etkiye ulaşamadığı ve 50 mg/kg kaempferol'ün bir arada uygulamaya göre daha anlamlı (p<0.05) olduğu görülmektedir. Diklofenakın tek başına uygulandığında gösterdiği etkiyle kıyaslandığında ise birbirine daha yakın olduğu görülmektedir.

3.2.2. 25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak uygulaması

Şekil 3.6.'de sıcak plaka testinde 25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın tek başlarına uygulandığında oluşturdukları antinosiseptif etkilerin karşılaştırılması verilmiştir. Yarı dozların birlikte uygulanması sonucu kontrole göre anlamlı (p<0.01) antinosiseptif etki görülmesine rağmen 50 mg/kg kaempferol'ün tek başına uygulanması sonucu elde edilen antinosiseptif etki hem kontrole hem de kombine uygulamaya göre anlamlıdır (p<0.001). Kombine uygulama beklendiği gibi 50 mg/kg kaempferol veya 10 mg/kg diklofenakın gösterdiği antinosiseptif etkiyi gösterememiştir.



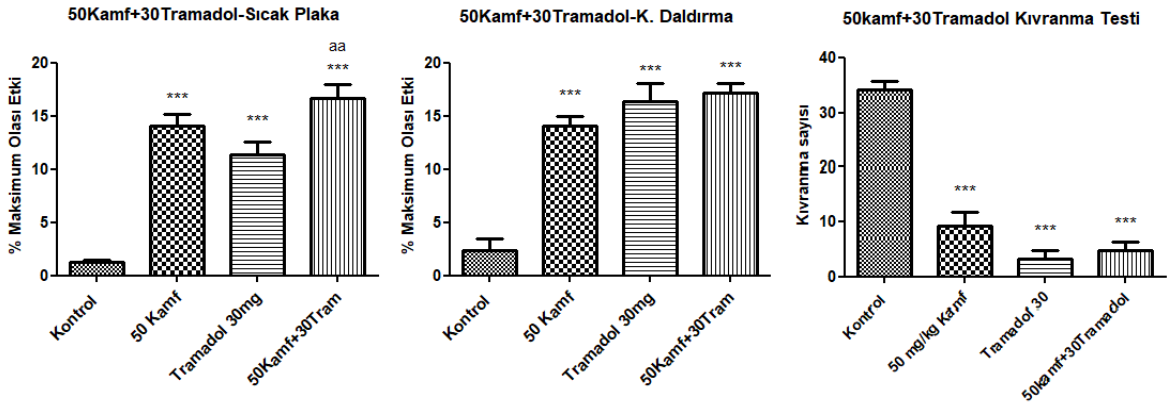
Şekil 3.6 *25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak kombine uygulamasının antinosiseptif etkisinin sıcak plaka testinde, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testinde değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, **p<0.01, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

Kuyruk daldırma testinde, 25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın antinosiseptif etkilerinin karşılaştırılması Şekil 3.6'da verilmiştir. Kombine uygulama kontrole göre anlamlı bulunmazken 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın antinosiseptif etkileri kombine uygulamayla karşılaştırıldığında anlamlı etki (sırasıyla; $p<0.001$, $p<0.01$) göstermiştir.

Şekil 3.6'da asetik asitle indüklenen kıvranma testinde 25 mg/kg kaempferol ve 5 mg/kg diklofenak kombine uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 10 mg/kg diklofenakın tek başlarına uygulandığında oluşturdukları antinosiseptif etkileriyle karşılaştırması verilmiştir. Kombine uygulama kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı antinosiseptif etki göstermemiştir. Ancak, anlamlılık göstermemekle birlikte kombine uygulamanın antinosiseptif etkisi 50 mg/kg kaempferolün antinosiseptif etkisine göre görece daha etkilidir ve 10 mg/kg diklofenakın antinosiseptif etkisi ile karşılaştırıldığında ise hemen hemen aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir.

3.2.3. 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadol uygulaması

Şekil 3.7.'de 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadol kombine uygulamasının 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadolün tek başlarına uygulandığında oluşturdukları etkilerin birbiriyle karşılaştırması gösterilmiştir.

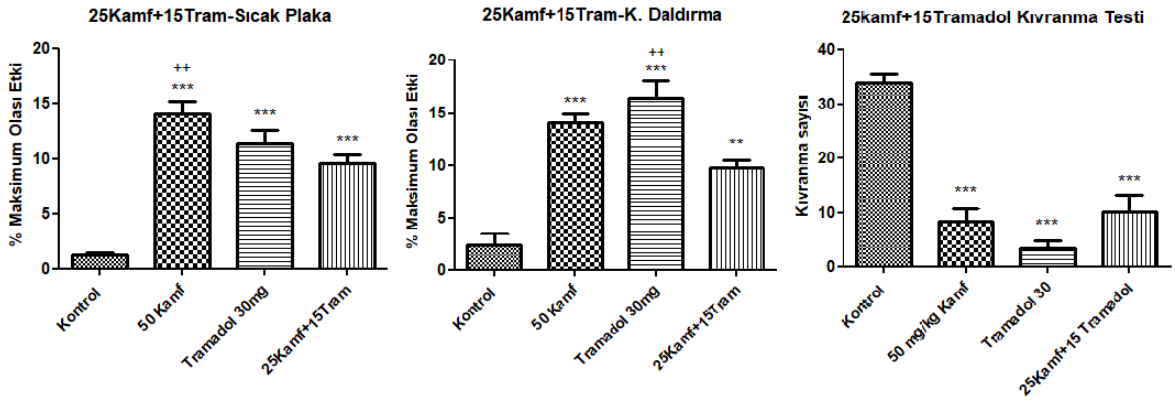


Şekil 3.7. *50 mg/kg Kaempferol ve 30 mg/kg tramadol kombine kullanımının değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001, 30 mg/kg Tramadole göre anlamlı fark: ^{aa}p<0.01, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

Uygulanan kombine 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadol tüm analjezi testlerinde anlamlı (p<0.001) antinosiseptif etki göstermiştir. Kombine uygulamada görülen antinosiseptif etki tüm deneylerde her iki maddenin tek başına uygulanması ile elde edilen etkiye benzerdir. Sadece sıcak plaka testinde kombine uygulama 30 mg/kg tramadole göre anlamlı (p<0.01) bir etki göstermiştir (Şekil 3.11).

3.2.4. 25 mg/kg kaempferol ve 15 mg/kg tramadol uygulaması

25 mg/kg kaempferol ve 15 mg/kg tramadolün tüm analjezi testlerinde anlamlı (p<0.001) antinosiseptif etki gösterdiği şekil 3.8'de gösterilmiştir. Kombine uygulama tüm testlerde anlamlı (p<0.001, p<0.01) antinosiseptif etki göstermiş olmakla birlikte santral analjezi testlerinde 50 mg/kg kaempferol ve 30 mg/kg tramadol'ün tek başlarına gösterdikleri antinosiseptif etkiden daha düşük düzeyde etki gösterdiği belirlenmiştir. Asetik asitle indüklenen kıvranma testinde ise anlamlılık göstermemekle birlikte her ikisinin etkisine yakın derecede antinosiseptif etki göstermiştir.

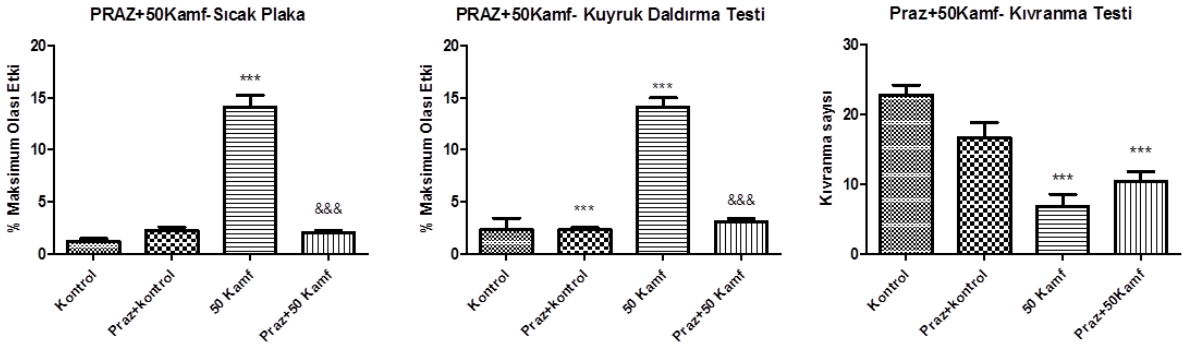


Şekil 3.8. *25 mg/kg Kaempferol ve 15 mg/kg tramadol kombine kullanımının değerlendirilmesi. Veriler ortalama±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: $^{***}p<0.001$, $^{**}p<0.01$, 25 mg/kg kaempferol+15 mg/kg tramadol uygulamasına göre fark: ^{++}p<0.01, Kamf: Kaempferol, (n=7-8).*

3.3. Kaempferolün Analjezik Etkisinin Adrenerjik Sistemle İlişkisi

3.3.1. Kaempferolün α1 adrenerjik reseptörler üzerindeki etkisi

Şekilde sırasıyla sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenmiş kıvranma testlerinde α1-adrenerjik antagonist olan α1 blokörü prazosinin 30 dakika önce (i.p.) uygulamasının, 50 mg/kg kaempferolün analjezik etkisini ne yönde etkilediği gösterilmiştir.



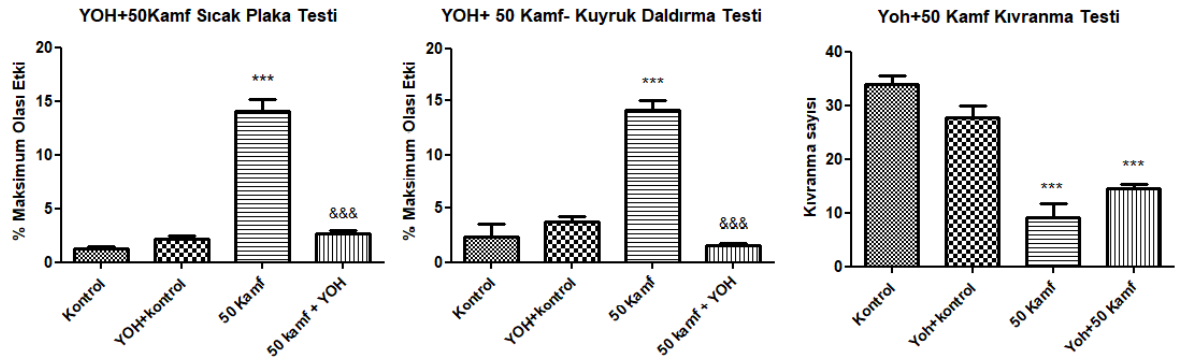
Şekil 3.9. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine alfa-1 adrenerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001; 50mg/kg kaempferole göre anlamlılık: &&&p<0,001. Kamf: Kaempferol, PRA: Prazosin, (n=7-8).*

Sıcak plaka ve kuyruk daldırma testinde, 50 mg/kg kaempferolün tek başına uygulaması ile elde edilen antinosiseptif etkinin prazosin uygulandığında anlamlı (p<0,001) olarak geri çevrildiği belirlenmiştir (Şekil 3.9). Asetik asitle indüklenen kıvranma testinde ise 50 mg/kg kaempferol uygulaması ile elde edilen kıvranma sayısındaki düşüşün, prazosin uygulaması ile anlamlı bir şekilde geri çevrilmediği ve etkinin kontrole göre hala anlamlı olarak devam ettiği belirlenmiştir.

3.3.2. Kaempferolün α2 adrenerjik reseptörler üzerindeki etkisi

Şekil 3.10'de, 50 mg/kg kaempferolün yohimbin önuygulaması sonucu santral analjezik testler olan sıcak plaka ve kuyruk daldırma testlerinde antinosiseptif etkiyi anlamlı (p<0,001) olarak geri çevirdiği belirlenmiştir. Periferik analjezinin değerlendirilmesinde kullanılan asetik asitle indüklenen kıvranma testinde ise anlamlı bir geri dönüş görülmezken

50 mg/kg kaempferolün kontrole göre hala anlamlı etki gösterdiği belirlenmiştir.

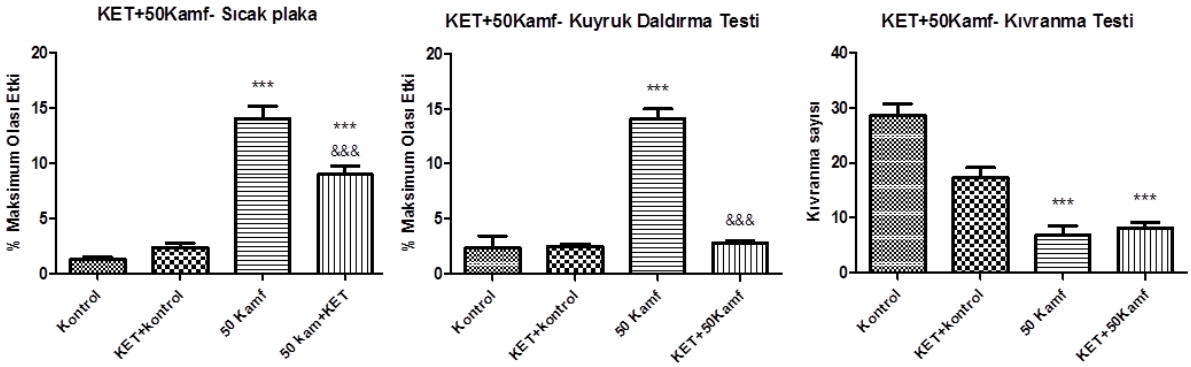


Şekil 3.10. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine alfa-2 adrenerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001; 50mg/kg kaempferole göre anlamlılık: &&&p<0,001. Kamf: Kaempferol, YOH: yohimbin, (n=7-8).*

3.4 Kaempferolün Analjezik Etkisinin Serotonerjik Sistemle İlişkisi

3.4.1 Kaempferolün $5HT_2$ serotonerjik reseptörler üzerindeki etkisi

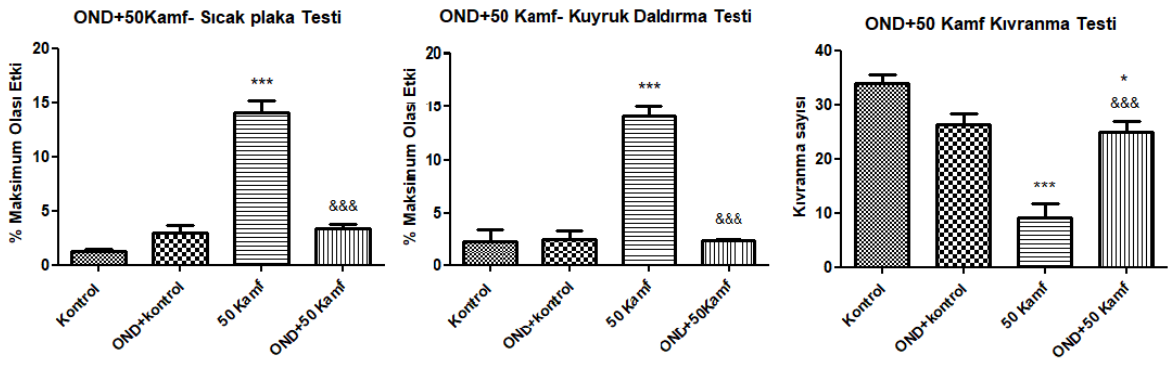
Şekil 3.15'de, 50 mg/kg kaempferolün antinosiseptif etkisinin $5HT_2$ resptör antagonisti ketanserin önuygulaması sonucu sıcak plaka ve kuyruk daldırma testlerinde anlamlı (p<0,001) olarak geri döndüğü belirlenmiştir. Ancak sıcak plaka testinde kaempferolün antinosiseptif etkisi anlamlı olarak geri dönerken aynı zamanda da etkinin halen devam ettiği görülmektedir. Asetik asitle indüklenen kıvranma testinde ise anlamlı bir etki söz konusu değildir.



Şekil 3.11. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT_2 serotonerjik reseptörlerin katılımı. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001; 50 mg/kg kaempferole göre anlamlılık: &&&p<0,001. Kamf: Kaempferol, KET: ketanserin, (n=7-8).*

3.4.2 Kaempferolün 5HT$_3$ serotonerjik reseptörler üzerindeki etkisi

Şekil 3.16'da sırasıyla sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde 5-HT$_3$ serotonerjik reseptör antagonisti ondansetronun 50 mg/kg kaempferolün analjezik etkisi üzerine olan antagonistik etkileri gösterilmiştir.

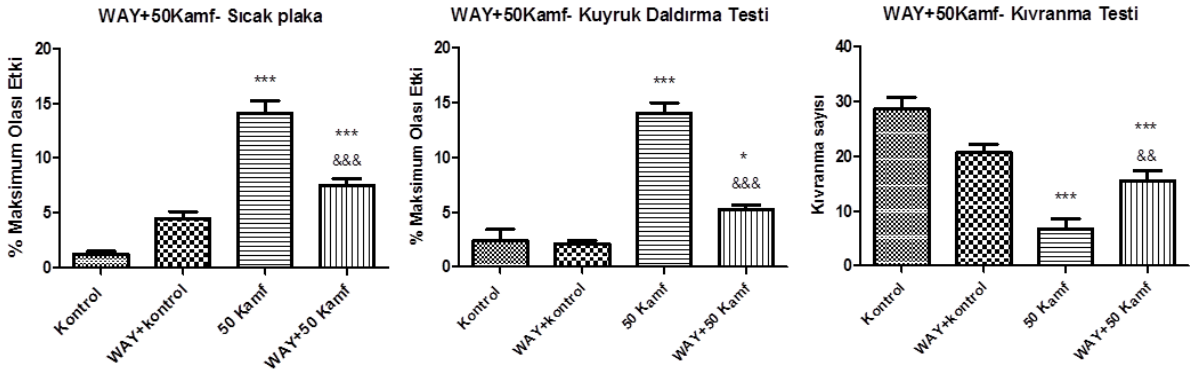


Şekil 3.12. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT$_3$ serotonerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001; 50 mg/kg kaempferole göre anlamlılık: &&&p<0,001. Kamf: Kaempferol, OND: ondansetron, (n=7-8).*

Bu etkiler değerlendirildiğinde sıcak plaka, kuyruk daldırma ve kıvranma testlerinde 50 mg/kg kaempferolün analjezik etkisinin ondansetron tarafından anlamlı (p<0.001) olarak geri çevrildiği belirlenmiştir. Sadece kıvranma testinde kontrole göre halen anlamlı (p<0.05) bir antinosiseptif etkinin olduğu görülmektedir.

3.4.3 Kaempferolün 5HT$_{1A}$ serotonerjik reseptörler üzerindeki etkisi

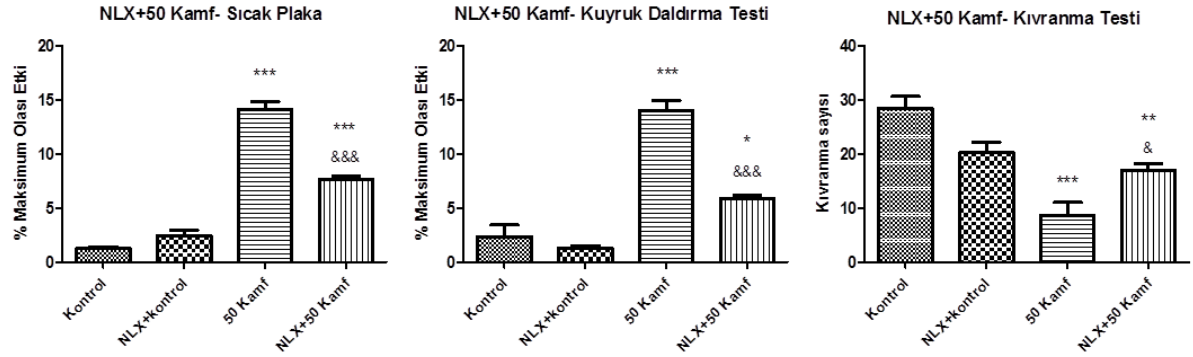
Şekil 3.17'de sırasıyla sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde 5-HT$_{1A}$ Serotonerjik reseptör antagonisti WAY 100635 bileşiğinin ön uygulanmasında, 50 mg/kg kaempferolün antinosiseptif etkisi üzerine olan etkileri görülmektedir. Uygulanan tüm analjezi testlerinde WAY100635'in kaempferolün analjezik etkisini anlamlı (p<0,001, p<0,01) düzeyde geri çevirdiği ancak analjezik etkinin yinede kontrole göre anlamlı (p<0,001, p<0,05) olarak devam ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, 5-HT$_{1A}$ serotonerjik reseptörtörlerin yanı sıra farklı mekanizmalarında kamferolün antinosiseptif etkisine katıldığını göstermektedir.



Şekil 3.13. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine 5-HT$_{1A}$ serotonerjik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: $^{***}p<0.001$; 50mg/kg kaempferole göre anlamlılık: $^{\&\&\&}p<0,001$. Kamf: Kaempferol, WAY: WAY 100635, (n=7-8).*

3.5. Kaempferolün Analjezik Etkisinin Opioiderjik Sistemle İlişkisi

Şekil 3.18'de sırasıyla sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde nonselektif opioid reseptör antagonisti naloksonun önuygulanması sonucu, 50 mg/kg kaempferolün analjezik etkisi anlamlı (p<0,001, p<0,05) olarak geri çevrilmiştir. Ancak kaempferolün analjezik etkisininde halen anlamlı olarak (testlere göre sırasıyla; p<0,001, p<0,05, p<0,01) devam etiiği görülmektedir.



Şekil 3.14. *Kaempferolün antinosiseptif etkisine opioidrejik reseptörlerin katılımının değerlendirilmesi. Verilerin ortalaması±SEM. Kontrol grubuna göre anlamlı fark: ***p<0.001; 50 mg/kg kaempferole göre anlamlılık: $^{\&\&\&}p<0,001$. Kamf: Kaempferol, NAL: nalokson,, (n=7-8).*

4. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, kaempferolün santral analjezik etkisi sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri ile perifereal analjezik etkisi ise asetik asitle indüklenen kıvranma testi kullanılarak araştırılmıştır. Santral ve periferal etkinin ayrı ayrı incelenmesi ağrıya etki eden bölgelerin ve mekanizmaların farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Kaempferol 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda sıcak plaka, kuyruk daldırma ve asetik asitle indüklenen kıvranma testlerinde değerlendirilmiştir ve uygulanan tüm dozlarda anlamlı antinosiseptif etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3). Bu dozlar arasından tüm anajezi testlerinde en etki olduğu belirlenen 50 mg/kg doz seçilerek adrenerjik, serotonerjik ve opioderjik reseptörlerin kaempferolün analjezik etkisine katkısı değerlendirilmiştir. Adrenerjik sistemin katılımını incelemek için prazosin (α1-adrenoseptör antagonisti) ve yohimbin (α2-adrenoseptör antagonisti) antagonistleri varlığında 50 mg/kg kaempferol uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre santral analjezik etkinliği değerlendirdiğimiz deneylerde (sıcak plaka ve kuyruk daldırma testleri) hem parzosin hemde yohimbin kaempferolün analjezik etkisini anlamlı olarak geri çevirirken, periferik analjezik etkinin ölçüldüğü kıvranma testinde her iki antagonistte anlamlı bir geri dönüş sağlamamıştır (Şekil 3.13 ve 3.14). Omurilikte inici yolaklarda yer alan noradrenerjik sistem, α1 ve α2 adrenoseptörler aracılığı ile ağrının modülasyonunda rol aldığı bilinmektedir (Pertovaara, 2013; Maire, vd., 2016). Dorsal kök gangliyonunda α2 adrenoseptörler ve özellikle yoğun olarak α1A-adrenoseptörlerin bulunduğu bildirilmektedir. Bunun yanısıra hem α1- hem de α2-adrenoseptörleri, çıkan noradrenerjik yolların geniş dağılımı ile uyumlu olarak supraspinal bölgelerde yaygın olarak dağılmaktadır (Pertovaara, 2013). Elde ettiğimiz sonuçlara göre kamferolün santral analjezik etkisinde alfa adrenerjik reseptörlerin önemli rol oynadığını söyleyeblirken periferdeki etkisinde bu reseptörlerin kısmen rol aldığını ve farklı mekanizmalarında bu etkiye katılıyor olabileceğini söyleyebiliriz.

Kamferolün analjezik etkisinde serotonerjik reseptörlerin katılımını değerlendirmek için 5-HT_2, 5-HT_3 ve 5-HT_{1A} reseptör antagonistleri kullanılarak deneyler tekrar edilmiştir (Şekil 3.11, 3,12, 3.13). Serotonin ağrının modülasyonun önemli rol oynayan nörotransmitterlerin başında gelmekte ve ağrının hem iletiminde hem de inhibisyonunda rol almaktadır. Reseptör çeşitliliğinin fazla olmasından da anlaşılacağı gibi serotonin farklı pek

çok fizyolojik rolü bulunmaktadır. Omurilikte yer aldığı bilinen serotonin reseptörleri 5-HT_1, 5-HT_2, 5-HT_3, ve 5-HT_4 olduğu bildirilmektedir. Bu reseptörler, spinal ve suprspinal düzeydeki nosisepsiyonun düzenlenmesinde rol almaktadırlar (Kukushkin ve Igon'kina, 2003; Jeong vd., 2004). Elde etiğimiz sonuçlar değerlendirildiğinde kullanılan tüm serotonerjik antagonistlerin etkiyi anlamlı olarak geri çevirdiğini göstermektedir. Ondansetron (5-HT_3 antagonisti) ve WAY100635 (5-HT_{1A} antagonisti) tüm deneylerde kaempferolün analjezik etkisini anlamlı olarak geri çevirirken (Şekil 3.12, 3.13), ketanserin sıcak plaka ve kuyruk daldırma testlerinde anlamlı bir geri dönüş sağlarken, kıvranma testinde etkide anlamlı bir geri dönüş sağlamamıştır (Şekil 3.11). Ondansetron ve WAY100635 ön uygulamasında kıvranma testinde etkinin anlamlı olarak geridönmüş olmasına rağmen etkinin halen anlamlı olarak devam ettiği belirlenmiştir. Kaempferolün periferik analjezik etkisinde serotonerjik sistemin dışında rol alan mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir.

Opioid reseptörler μ, κ ve δ olarak sınıflandırılır ve supraspinal, spinal ve periferik bölgelerde yaygın olarak bulunurlar ve ağrının tedavisindeki en önemli hedefler arasında yer almaktadırlar. Bu amaçla çalışmamızda nonselektif opioid reseptör antagonisti nalokson ön uygulaması sonrasında kampferolün analjezik etkisi değerlendirilmiştir. Tüm analjezi deneylerinde uygulanan nalokson kampferolün analjezik etkisini anlamlı olarak geri çevirmesine rağmen kontrole göre anlamlı analjezik etkinin devam ettiği belirlenmiştir (Şekil 3.14). Bu sonuçlara göre kampferolün analjezik etkisine opioid reseptörlerin katılımı olmakla birlikte farklı sistemlerin de katılımının olduğunun düşünülmesine neden olmaktadır. Tez çalışması kapsamında yapılan mekanizma çalışmaları sonucunda kampferolün analjezik etkisinde adrenerjik ve serotonerjik sistemin katılımının daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ağrı modülasyonunda bu sistemlerin birbiriyle etkilerşim içinde olduğu ve birbirlerini harekete geçirebilecekleride unutulmamalıdır.

Tezimizde bilinen analjezik ilaçlarla kaempferolün kombine kullanımının sağlayacağı sinerjistik etkileşimi incelemek amacıyla diklofenak ve tramadol ile kaempferolüdeney hayvanlarına bir arada uyguladık. Diklofenakla yapılan kombine uygulama sonucunda beklendiği gibi kombine uygulama gerek kaempferolün gerekse diklofenakın tek başına gösterdiği etkiden daha anlamlı ya da sinerjistik bir etki göstermemiştir. Özellikle yarı

dozların bir arada kullanılması ile yapılan çalışmalarda elde edilen analjezik etki tüm testlerde daha düşük düzeyde kalmıştır. Aynı şekilde tramadolle yapılan kombine uygulama çalışmasında özellikle santral analjezi testlerinde tam doz (50 mg/kg kaempferol + 30 mg/kg tramadol) kombinasyonunda maddelerin tek başlarına kullanımlarına yakın analjezik etki elde edilirken yarı dozlarda yapılan uygulamada ise tek başlarına kullanımlarına yakın analjezik etki elde edilememiştir. Ancak kıvranma testinde her iki kombinasyonda da maddelerin tek başlarına kullanımlarına benzer şekilde analjezik etki elde edilmiştir. Buradan hareketle periferal ağrılarda tramadol ve kaempferolün yarı/tam dozlarının kombine kullanılmasının etkili olacağı sonucana varılmıştır.

Kaempferolün analjezik etkinliğini değerlendirmek için yapılmış olan farklı çalışmalar bulunmaktadır. Çin geleneksel tıbbında antiinflamtuvar ve antinosiseptif olarak yaygın biçimde kullanımı olan *Carthamus tinctorius L.* ekstratının biyolojik akrivite kaynağının belirlenmesi için yapılan bir çalışmada kaempferol 3-O-rutinoside ve kaempferol 3-O-glucoside olmak üzere 2 farklı kaempferol glizokozidi izole edilmiş ve bunların analjezik etkileri formalin testi ve asetik asitle indüklenen kıvranma testi incelenmiştir. Kaempferol glikozitlerinin önemli derecede analjezik etki gösterdiği bildirilmiştir (Wang vd., 2014). Ancak bu çalışmada etki mekanizması çalışılmamıştır. Başka bir çalışmada ise yine geleneksel kullanımı olan *Chiliotrichum diffusum* bitki ekstresinin antinosiseptif etkisi sıcak plaka ve asetik asitle indüklenen kıvranma testleri ile incelenmiş ve etkinin kaempferol ve glikozitlerinin de arasında bulunduğu bazı flavonoidlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca elde edilen analjezik etkinin tedavi öncesi uygulanan nalakson ile önemli ölçüde baskınlandığı da gösterilmiştir. Bu sebeple bitki içeriğinin analjezik etkisinin opioid sistemle de ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Bahamonde vd., 2013). De Melo vd. (2009) yaptıkları bir çalışmada ise *Sedum dendroideum*' dan elde ettikleri kaempferol türevlerinin asetik asitle indüklenen kıvranma testinde analjezik etkilerini ve antiinflamatuvar etkilerini de göstermişlerdir.

Yine diğer bir çalışmada dünya çapında geleneksel tedavilerin önemli bir parçası olan *Cistus* türlerinden biri olan *Cistus laurifolius L.* bitkisinin ekstraktı ve odunsu olmayan dallarına ait yaprak parçalarının antiiflamatuvar etkisi araştırılmıştır. Asetik asitle indüklenen vasküler permaabilite artışı ve karragenin ile indüklenen pençe ödemi modelleri tercih edilen

çalışmada *Cistus laurifolus L.* ekstraktından 3-O-methylquercetin, 3,7-O-dimethylquercetin ve 3,7-O-dimethylkaempferol flavonoidleri izole edilmiş ve yine bu iki model üzerine uygulanmıştır. Sonuçlar her ikisinde de inflamatuvar sürecin baskılandığını göstermektedir. Daha sonrasında ise bu ekstraktın p-benzokinon ile indüklenen kıvranma refleksini önemli ölçüde inhibe ederek antinosiseptif etkiye de sahip olduğu ifade edilmiştir (Küpeli ve Yeşilada, 2007).

Eruca sativa bitkisinden elde edilen ekstraktın ve kaempferolün, streptozosin ile indüklenen diyabet modelinde, hiperaljezi, mekanik allodini, motor sinir iletim hızı ve oksidatif stres üzerine olan etkileri araştırılmıştır *E. sativa* ekstraktı ve kaempferolün diabetik nöropatik ağrının bu belirtilerini önemli ölçüde geriye çevirdiği ifade edilmiştir (Kishore, vd., 2018).

Dryopteris cycadina bitkisinden elde edilen kaempferol-3,7- di-O-α-L-rhamnopyranosid bileşiğinin analjezik etkisi asetik asitle indüklenen kıvranma testi kullanılarak çalışılmıştır. Seçilen dozlarda uygulanan bileşiğin maksimun etkiye ulaştığında kıvranma sayısını %63 kadar azalttığı bildirilmiştir. Buna ek olarak formalin testinin her iki fazında da belirgin antinosiseptif etkiye yol açtığı da gösterilmiştir. Selektif olmayan kolinerjik reseptör antagonisti atropin uygulaması ile analjezik etkinin ciddi ölçüde geriye döndürüldüğü, glibenklamid ve nalokson uygulaması ile ciddi oranda değişimler gözlenmediği ifade edilmiştir. Ayrıca doking çalışmaları sonucunda bileşiğin COX-2 inhibisyonu yaptığı da ortaya çıkartılmıştır (Ali vd. 2017). Bir başka çalışmada ise *Ouratea fieldingiana*'dan izole edilen kaempferol-3-O-rutinosidin antinosiseptif etkisi akut orafasiyal ağrı modelinde gösterilmiş ve bu etkiye opioid ve nitrerjik sistemlerin yanısıra TRP kanallarınında katılıyor olduğu bildirilmiştir (do Nascimento, vd., 2018).

Yapılan tüm bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi kaempferolün analjezik etkisine farklı sistemlerin aracılık ettiği anlaşılmaktadır. Bizim sonuçlarımızda da adrenerjik, serotonerjik ve opioid sistemlerin belli oranlarda katkısının olduğu görülmektedir. Etkili olan sistemlerin daha net anlaşılabilmesi için farklı antagonistlerin varlığında çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamız kaempferolün etki mekanizması hakkında

kesin veriler sağlayamamakla beraber daha spesifik çalışmalar yapılabilmesi için bir yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında kaempferolün analjezik etkisini ve bu etkide rol alan yolaklar araştırılmıştır. Ayrıca kaempferolün diklofenak ve tramadolle kombine kullanımı değerlendirilmiş ancak beklendiği gibi analjezik etkide artış görülmemiştir. Kaempferolün uygulana tüm dozlarında anlamlı olarak analjezik etki görülmüştür. Bu nedenle kaempferol analjezik bir ilaç olarak geliştirilebilme potansiyeli taşımaktadır. Ancak diğer analjezik ilaçlarla birlikte kombine kullanımı için farklı dozlarla ve ilave çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Kaempferolün analjezik etkisinde adrenerjik, seratonerjik ve opioid sistemin belirli düzeyde ve anlamlı olarak katkısının olduğu belirlenmiştir. Ancak ağrı oldukça kompleks ve karmaşık bir süreçtir ve bu nedenle incelenmesi gereken farklı yolaklar olduğunu belirtmemiz gerekir. Düşük toksisitesinin yanında antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif, kardiyoprotektif etkilere de sahip olduğu bildirilen kaempferolün ağrı tedavisi için tek başına ya da destekleyici tedavi olarak kullanılabileceği ifade edilebilir.

KAYNAKÇA

Ali, M., Rauf, A., Hadda, T.B., Bawazeer, S., Abu-Izneid, T., Khan, H., Raza, M., Khan, S.A., Shah, S.U., Pervez, S., Patel, S., Orhan, I.E., (2017), Mechanisms underlying anti-hyperalgesic properties of kaempferol-3,7- di-O-α-L-rhamnopyranoside isolated from Dryopteris cycadina, *Current Topics in Medicinal Chemistry*., 17 (4), 383-390.

Arıcıoğlu, F., Dizdar, Y., Üresin, Y., Kıraç, R., Özdemir, O., Baktır, G., Dülger, G., Ekinci, A., Edirne, S., (1990), Analjezikler, *Eczacı Odası Yayınları*, 18-26.

Aslan, F.E., (2005), Akut ağrı, *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 2 (1), 24-31.

Atınç, M. ve Kalkan, İ., (2018), Flavonoidler ve sağlık üzerine etkileri, *Aydın Gastronomy*, İstanbul Aydın Üniversitesi, 2 (1), 31-38.

Aydın, D., (2016), Rosmarinik asit analjezisine seratonerjik ve noradrenerjik modülasyonun katkısı, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

Aydın, O.N., (2002), Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış, *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD., 3 (2), 37-48,

Bahamonde, S.M.A., Flores, M.L., Córdoba, O.L., Taira, C.A., Gorzalczany, S., (2013) Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of *Chiliotrichum diffusum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia,* 23 (4), 699-705.

Beretz, A., Cazenave, J.P., Anton, R., (1982) Inhibition of aggregation and secretion of human platelets by quercetin and other flavonoids: structure-activity relationships, *Agents Actions*., 12 (3), 382-387.

Berry, P.H., Katz, JA., Covington, E.C., Miaskowski, C., Dahl J.L., (2001), Pain: current understanding of assesment, management and treatments, 1-17, *National Pharmaceutical Council,* Washington, DC 20006.

Bobe, G., Albert, PS., Sansbury, L.B., Lanza, E., Schatzkin. A., Colburn. N.H., Cross, A.J., (2010), Interleukin-6 as a potential ındicator for prevention of high risk adenoma recurrence

by dietary flavonols in the polyp prevention trial, *Cancer Prevention Research (Phila)*, 3 (6), 764–775.

Chen A.Y. ve Chen Y.C., (2013), A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention, *Food Chemistry*, 138 (4), 2099–2107.

De Melo, G. O., Malvar, D. D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from Sedum dendroideum. *Journal of Ethnopharmacology*, 124 (2), 228-232.

do Nascimento, J. E. T., de Morais, S. M., de Lisboa, D. S., de Oliveira Sousa, M., Santos, S. A. A. R., Magalhães, F. E. A., & Campos, A. R. (2018). The orofacial antinociceptive effect of Kaempferol-3-O-rutinoside, isolated from the plant Ouratea fieldingiana, on adult zebrafish (Danio rerio). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 1030-1036

Eddy, N.B., Leimback, D., (1953), Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 107, 385-393.

Fernandes, I., Pérez-Gregorio, R., Soares, S., Mateus, N., Freitas, V., (2017), Wine flavonoids in health and disease prevention, *Molecules*., 22 (2), 292.

Garde-Cerdan, T., Gonzalo-Diago, C, (2016), Kaempferol, -biosynthesis, food sources and therapeuatic uses-, Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Logroño, Spain, ISBN: 978-1-63485-828-1, *NOVA*.

Girish, C., Raj, V., Arya, J., Balakrishnan, S., (2012), Evidence for the involvement of the monoaminergic system, but not the opioid system in the antidepressant-like activity of ellagic acid in mice, *European Journal of Pharmacology*, 682 (1-3), 118-25.

Güven, E.Ç., Otkun, G.T., Boyacıoğlu, D., (2010), Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler, *GIDA*, Gıda Teknolojisi Derneği, 35 (5), 387-394.

Hasçelik, Z., (Ocak 2001), Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (STED).*, Hacettepe Ü. Tıp Fak. Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon AD, Ankara.

Jeong, C.Y., Choi, J.I., Yoon, M.H. (2004). Roles of serotonin receptor subtypes for the antinociception of 5-HT in the spinal cord of rats. European journal of pharmacology, 502 (3), 205-211.

Jennings, A., MacGregor, A., Spector, T., Cassidy, A., (2017) Higher dietary flavonoid intakes are associated with lower objectively measured body composition in women: evidence from discordant monozygotic twins, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105 (3), 626-634.

Kahraman A., Serteser, M. ve Köken, T., (2002), Flavonoidler, *Kocatepe Tıp Dergisi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fak., Biyokimya AD., 3, 01-08.

Kishore, L., Kaur, N., & Singh, R. (2018). Effect of Kaempferol isolated from seeds of Eruca sativa on changes of pain sensitivity in Streptozotocin-induced diabetic neuropathy. *Inflammopharmacology*, 26(4), 993-1003.

Koç, E.R., (2008), "S- LANSS (Self-Leeds assessment of neuropathic symptoms and sign)" Ağrı skalasının Türkçe versiyonunun geçerlilik ve güvenilirlik çalısması, *Uzmanlık Tezi.*, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Kırıkkale.

Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J., (1959), Acetic acid for analgesic screening, *Fed Proc*, 18, 412.

Kowalski, J., Samojedny, A., Paul, M., Pietsz, G. ve Wilczok, T., (2005), Effect of apigenin, kaempferol and resveratrol on the expression of interleukin-1β and tumor necrosis factor-α genes in J774.2 macrophages, *Pharmacological Reports*, 57, 390–394.

Kukushkin, M.L., Igon'kina, S.I. (2003). Role of 5-HT 3 Receptors in the mechanisms of central pain syndrome. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 135(6), 552-555.

Küpeli, E., Yesilada, E., (2007), Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from Cistus laurifolius L. leaves through bioassay-guided procedures. *Journal of ethnopharmacology*, 112 (3), 524-530.

Lee, S., Kim Y.J Kwon, S., Lee, Y., Choi, S.Y., Park, J. ve Kwon, H.J., (2008), Inhibitory effects of flavonoids on TNF-α-induced IL-8 gene expression in HEK 293 cells., *Biochemistry & Molecular Biology Reports*, 42 (5), 265–270.

Maaliki, D., Shaito, A.A., Pintus, G., El-Yazbi, A. ve Eid, AH., (2019), Flavonoids in hypertension: a brief review of the underlying mechanisms, *Current Opinion in Pharmacology*, 16 (45), 57-65.

Maire, J.J., Close, L. N., Heinricher, M. M., & Selden, N. R. (2016). Distinct pathways for norepinephrine-and opioid-triggered antinociception from the amygdala. *European Journal of Pain*, 20 (2), 206-214.

Mansouri, M.T., Naghizadeh, B., Ghorbanzadeh, B., Farbood Y., (2013), Central and peripheral antinociceptive effects of ellagic acid in different animal models of pain, *European Journal of Pharmacology*, 707, 46-53.

Marazioti, A., Spyraki, C., Thermos, K., (2009), GABA antagonists reverse the somatostatin dependent attenuation of rat locomotor activity, *Neuropeptides*, 43 (3), 207-212.

Mete, S., (2008), Deneysel akut ağrı modelinde tramadol-agmatin etkileşmesi ve olası mekanizmalarının arastırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Tibbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Adana.

Önal, S.A., (2006), Analjezik adjuvanlar, *Ağrı (review),* Fırat Üniversitesi, Fırat Tıp Merkezi, Algoloji Bilim Dalı, 18 (4), 10-23.

Pertovaara, A. (2013). The noradrenergic pain regulation system: a potential target for pain therapy. *European Journal of Pharmacology*, 716 (1-3), 2-7.

Schmauss, C., 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, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 228, 1–12.

Şentürk, T., (2014), Non-Steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ)., *İç Hastalıkları Dergisi*, 2, 490-495.

Tulgar, M., Arslan, A., Kalkan, E., (1998), Ağrı ve nörostimulasyon, *Van Tıp Dergisi,* Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, 5 (4), 258-263.

Wang, Y., Chen, P., Tang, C., Wang, Y., Li, Y., Zhang, H., (2014), Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of Carthamus tinctorius L. *Journal of ethnopharmacology*, 151 (2), 944-950.

Yücel, A., Çimen A., (2005), Nöropatik ağrı: mekanizmalar, tanı ve tedavi, *Ağrı (review)*, Türk Algoloji Derneği, 17 (1), 5-13.

Zareba, G., (2009), Phytotheraphy for pain relief, Drugs Today (Barc.), 45 (6), 445-467.

Wang, Y., Chen, P., Tang, C., Wang, Y., Li, Y., Zhang, H., (2014), Antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and two isolated flavonoids of Carthamus tinctorius L., *Journal of Ethnopharmacology,* 3;151 (2):944-50.

T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERI YEREL ETIK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 7 Dosya Kayıt No: 18-49 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Kaempferol'ün analjezik etkisine katkıda bulunan ağrı yolaklarının incelenmesi.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Doç.Dr.Rana ARSLAN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN, Merve Fatma KASAP
	Hayvan Türü ve Sayısı	Balb/c (Dişi/Erkek)/250

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr.Rana ARSLAN 'ın araştırma yürütücüsü olduğu 18-49 dosya kayıt no'lu "Kaempferol'ün analjezik etkisine katkıda bulunan ağrı yolaklarının incelenmesi" başlıklı projesindeki fare ırkının Balb/c olarak değiştirilmesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2018-49	**KARAR TARİHİ:09.11.2018**

ETİK KURUL ÜYELERİ

ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Doç. Dr. Bülent ERĞUN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç.Dr. Sinem ILGIN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Harun BÖCÜK ÜYE	Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Gökhan KUŞ ÜYE	Açıköğretim Fakültesi Sağlık Programları Bölümü	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ ÜYE	Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Dr. Öğr. Üyesi Vet. Hek. Mustafa ESER ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Dr. Kürşat KARTAL ÜYE	Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derneği Üyesi	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Vet. Hek. Mustafa SAYIN ÜYE	Serbest	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	

Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Sekreterliği, Yunus Emre Kampüsü, 26470 ESKİŞEHİR
Tel+90 222 335 05 80-3798 Faks+90 222 335 36 16, E-Posta hadyekanadolu@gmail.com, Web http://www.anadolu.edu.tr