

Verbascum exuberans Hub.-Mor. Türünün *in vivo* Antinositif ve Antiinflatuvar
Etkilerinin Araştırılması

Esra Eyiş

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mayıs 2015

Investigation of the *in vivo* Antinociceptive and Antiinflammatory Effects of *Verbascum
exuberans* Hub.-Mor.

Esra Eyiiş

DOCTORAL DISSERTATION

Department of Biology

May 2015

Verbascum exuberans Hub.-Mor. Türünün *in vivo* Antinosiseptif ve Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması

Esra Eyiş

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Adnan AYHANCI

Bu tez ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından 2013-190 no'lu proje çerçevesinde desteklenmiştir.

Mayıs 2015

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Esra Eyiiş'in DOKTORA tezi olarak hazırladığı “*Verbascum exuberans* Hub.-Mor türünün *in vivo* antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırılması” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Adnan AYHANCI

İkinci Danışman : -

Doktora Tez Savunma Jürisi:

Üye : Doç. Dr. Adnan Ayhancı

Üye : Prof. Dr. Fatma Sultan Kılıç

Üye : Prof. Dr. Mehtap Kutlu

Üye : Prof. Dr. Figen Ünlü Erkoç

Üye : Doç. Dr. Figen Çalışkan

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Adnan AYHANCI danışmanlığında hazırlamış olduğum “*Verbascum exuberans* Hub.-Mor. türünün *in vivo* antinosisseptif ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırılması” başlıklı DOKTORA tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 11/05/2015

Esra Eyiiş

İmza

ÖZET

Bu çalışma, *Verbascum exuberans* ekstresi (Vex)'nin antinosiseptif etkinliğini, bu etkide serotonerjik, nitreerjik ve opiyoderjik yolaklar üzerindeki rolünü ve antiinflamatuvar aktivitesini belirlemek üzere dizayn edilmiştir. Ekstrenin santral antinosiseptif etkinliği *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testleriyle, periferal antinosiseptif etkinliği ise asetik asit ile oluşturulan writhing testiyle araştırılmıştır. Bu duruma ek olarak, Vex (250 mg/kg) L-NAME (100 mg/kg), siproheptadin (50 µg/kg) ve nalokson (1 mg/kg) ile kombine edilmiştir. Karragenan ile oluşturulan arka ayak pençe ödem modeli Vex (250 mg/kg)'nin antiinflamatuvar aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır. 250 mg/kg Vex % MPE değerlerini sadece *tail clip* testinde arttırırken ($p<0,05$), 500 mg/kg Vex % MPE değerlerini *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testlerinde arttırmamıştır ($p>0,05$). Ekstrenin her iki dozu asetik asit ile oluşturulan writhing testinde kıvrınma sayılarını azaltmıştır ($p<0,001$). Vex ile kombine verilen L-NAME santral antinosiseptif testlerdeki % MPE değerini sadece *tail clip* testinde arttırdığı görülmüştür ($p<0,05$). L-NAME ve nalokson kombine gruplarında ekstrenin kıvrınma sayılarını azalttığı ($p<0,05$), siproheptadin ile kombine verilen grupta ise azaltmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Çalışmamızda, Vex'nin santral spinal düzeyde antinosiseptif etkili olduğu, santral supraspinal düzeyde antinosiseptif etkili olmadığı ve Vex'nin periferal antinosiseptif etkili olduğu bulunmuştur. Vex'nin periferal antinosiseptif etkide hem nitreerjik hem de opiyoderjik yolaklara aracılık ettiği, serotonerjik yolağın aracılık etmediği görülmüştür. Ayrıca, Vex'nin santral spinal düzeyde nitreerjik yolak üzerinden antinosiseptif etkiye aracılık ettiği belirlenmiştir. Vex, karragenan ile oluşturulan inflamasyona karşı ödem miktarını TNF- α ve IL-1 β düzeylerini azaltarak inhibitör etki göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Verbascum exuberans*, Scrophulariaceae, antinosiseptif etki, antiinflamatuvar etki.

SUMMARY

This study was designed to investigate the antinociceptive effects of *Verbascum exuberans* extract (Vex) and the contribution of nitrenergic, serotonergic and opioidergic pathways of Vex, and the antiinflammatory activity of Vex. *Tail clip*, *tail flick*, and *hot plate* tests were used to investigate the central antinociceptive effect and acetic acid-induced writhing test was used to assess the peripheral antinociceptive effect of Vex. In addition, Vex (250 mg/kg) was combined with L-NAME (100 mg/kg), cyproheptadine (50 µg/kg), and naloxone (1 mg/kg). Carrageenan-induced hind paw edema model was used for the assessment of antiinflammatory activity of Vex (250 mg/kg). Vex 250 mg/kg increased MPE % solely in tail clip test ($p < 0.05$), whereas Vex 500 mg/kg did not enhance MPE % in *tail clip*, *tail flick* and *hot plate* tests ($p > 0.05$). The combined use of Vex with L-NAME reduced the MPE % solely in *tail clip* test ($p < 0.05$). Both doses of Vex decreased the number of stretchings in acetic acid-induced writhing test ($p < 0.001$). The combined use of Vex 250 mg/kg with L-NAME and naloxone decreased the number of stretchings ($p < 0.05$), while cyproheptadine did not ($p > 0.05$). We suggest that Vex presents central spinal but not central supraspinal antinociceptive effect and Vex shows peripheral antinociceptive effect. The opioidergic and nitrenergic pathways seem to mediate its peripheral antinociceptive effect of Vex while serotonergic pathway is not involved. Besides, nitrenergic pathway seems to mediate its central spinal antinociceptive activity of Vex. Vex inhibits carrageenan-induced edema formation as a consequence of decreasing TNF- α and IL-1 β levels.

Keywords: *Verbascum exuberans*, Scrophulariaceae, antinociceptive effect, antiinflammatory effect.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime adım attığım ilk günden bu yana bilim yolunda bana ışık tutan, bu yolda ilerlemem konusunda beni teşvik eden, sonsuz sabrı ve anlayışı ile her zaman destekleyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Adnan AYHANCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince, deneysel analizlerinde bilgi ve tecrübelerini paylaşan, tez çalışmalarına vakit ayırma mütevaziliğini gösteren ve sabırla her zaman takip eden çok değerli hocam sayın Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ'a (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı) çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince deneysel aşamalarda her türlü yardımı esirgemeyen ve emek harcayan, bilgilerini paylaşan Öğr. Gör. Dr. Bilgin KAYGISIZ'a (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı),

Tez çalışmam için Manisa yöresinde yetişen *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. türünün toplanması ve teşhisinde emeği geçen Doç. Dr. Kamuran AKTAŞ'a (Celal Bayar Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Botanik Anabilim Dalı),

Tez çalışmam süresince, deneysel analizleri istatistiksel açıdan değerlendirmeme yardımcı olan arkadaşım Arş. Gör. Hülya YILMAZ'a (Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı),

Tez çalışmamı maddi açıdan destekleyen Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Bilgiye ve eğitime verdikleri değeri her zaman hissettiren ve aşıl原因an, akademik hayata ilerlememi sağlayan, her anımda yanımda olduklarını hissettiren ve varlıklarından güç aldığım değerli aileme sonsuz sabır ve destekleri için minnettarım.

Esra Eyiş
Eskişehir, 2015

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ağrının Tanımı, Terminolojisi ve Sınıflandırılması	3
2.1.1. Nosisepatif ağrı	4
2.1.2. Visseral ağrı.....	5
2.1.3. Somatik ağrı	5
2.1.4. Nöropatik ağrı.....	5
2.1.5. Psikojenik ağrı.....	6
2.1.6. Akut ağrı.....	6
2.1.7. Kronik ağrı	6
2.2. Akut Ağrının Nöroanatomi ve Nörofizyolojisi	7
2.2.1. Primer afferent nosiseptörler	7
2.2.2. Periferik sensitizasyon.....	8
2.2.3. Nosisepsiyon aşamaları	9
2.2.3.1. <u>Transdüksiyon</u>	9
2.2.3.2. <u>Transmisyon</u>	9
2.2.3.3. <u>Modülasyon</u>	10
2.2.3.4. <u>Persepsiyon (Algılama)</u>	11
2.2.4. Omurilik dorsal boynuz nöronal sistemi	12
2.2.5. Santral sensitizasyon	14

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.3. Nitrik Oksit ve Ağrı	15
2.4. Nosiseptif Çıkıcı Sistemler	16
2.4.1. Spinotalamik yol.....	16
2.4.2. Spinoretiküler yol	17
2.4.3. Spinomezensefalik yol	17
2.4.4. Dorsal (Posterior) kolon yolu	18
2.4.5. Spinohipotalamik yol	18
2.5. Supraspinal Merkezler, Talamokortikal Projeksiyon ve Korteks	18
2.5.1. Supraspinal merkezler	18
2.5.2. Talamokortikal projeksiyon ve korteks	19
2.6. Ağrı Algılanmasında İnci Sistemlerin Düzenleyici Rolü	19
2.6.1. Opiyoderjik sistem	20
2.6.2. Noradrenerjik sistem	21
2.6.3. Serotonerjik sistem	21
2.7. Tramadol	21
2.8. Siproheptadin	22
2.9. Nalokson	23
2.10. İnflamasyon Tanımı ve Sınıflandırılması	23
2.10.1. Akut inflamasyon	24
2.10.1.1. <u>Vasküler değişiklikler</u>	24
2.10.1.2. <u>Lökositlerdeki hücresel olaylar</u>	25
2.10.1.3. <u>İnflamasyonun kimyasal mediyatörleri</u>	25
2.10.1.4. <u>İnflamatuvar yanıtın başlaması ve inflamazom</u>	29
2.10.1.5. <u>İnflamatuvar yanıtın ikinci aşaması</u>	29
2.10.1.6. <u>Doku tamiri ve inflamasyonun gerilemesi</u>	30
2.10.1.7. <u>İnflamatuvar hücrelerin ortamdandan uzaklaştırılması</u>	30
2.10.2. Kronik inflamasyon	32

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.10.3. Sitokinler	32
2.10.3.1. <u>Proinflamatuvar sitokinler</u>	32
2.10.3.2. <u>Antiinflamatuvar sitokinler</u>	33
2.10.4. İndometazin	33
2.11. <i>Verbascum</i> L. Genusu.....	34
2.11.1. <i>Verbascum</i> L. türlerinin kullanılışları	34
2.11.2. <i>Verbascum</i> L. türlerinin biyolojik aktivite çalışmaları.....	35
2.11.2.1. <u>Antiviral aktiviteleri</u>	35
2.11.2.2. <u>Antimikrobiyal ve antimalaryal aktiviteleri</u>	36
2.11.2.3. <u>Antioksidan aktiviteleri</u>	39
2.11.2.4. <u>Antinosiseptif, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etkileri</u>	41
2.11.2.5. <u>İmmünomodülatör aktiviteleri</u>	45
2.11.2.6. <u>Gastrik ülser aktiviteleri</u>	45
2.11.2.7. <u>Antihepatotoksik aktiviteleri</u>	45
2.11.2.8. <u>Antihiperlipidemik aktiviteleri</u>	46
2.11.2.9. <u>Antidiüretik aktiviteleri</u>	46
2.11.2.10. <u>Antitussif aktiviteleri</u>	46
2.11.2.11. <u>Antihelmintik ve antispazmodik aktiviteleri</u>	47
2.11.2.12. <u>Antitümör, antianjiyojenik ve sitotoksik aktiviteleri</u>	48
2.11.2.13. <u>Diğer aktiviteler</u>	50
3. MATERYAL VE YÖNTEM	52
3.1. Kullanılan Kimyasallar	52
3.2. Kullanılan Cihazlar	52
3.3. Bitkinin Toplanması ve Teşhisi	52
3.4. Bitkinin Kurutulması ve Toz Hale Getirilmesi.....	53
3.5. Bitkinin Ekstraksiyonu ve İzolasyonu	53
3.6. Bitkinin Liyofilizasyonu	55
3.7. Deney Hayvanları ve Ortam Koşulları	56
3.7.1. Deney grupları.....	57

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.7.2. Kimyasal maddeler ve veriliş yolları.....	58
3.8. Antinosiseptif Etkinin Belirlenmesi.....	58
3.8.1. <i>Tail clip</i> testi.....	59
3.8.2. <i>Tail flick</i> testi.....	60
3.8.3. <i>Hot plate</i> testi.....	60
3.8.4. Asetik asit ile oluşturulan writhing testi.....	61
3.9. Antiinflamatuvar Etkinin Belirlenmesi.....	61
3.9.1. Serum TNF- α düzeylerinin belirlenmesi.....	62
3.9.2. Serum IL-1 β düzeylerinin belirlenmesi.....	63
3.10. İstatistiksel Analizler.....	64
4. BULGULAR	65
4.1. Bitkinin Lokalitesi	65
4.2. Bitki Ekstresinin Verimi	65
4.3. Antinosiseptif Etki	66
4.3.1. Santral antinosiseptif etki sonuçları	66
4.3.2. Periferel antinosiseptif etki sonuçları	70
4.4. Antiinflamatuvar Etki Sonuçları.....	73
4.4.1. Karragenan ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli etki sonuçları	73
4.4.2. Serum TNF- α düzey sonuçları	76
4.4.3. Serum IL-1 β düzey sonuçları	77
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	79
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	85
EK AÇIKLAMALAR	110
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Nosisseptif uyarının üç nöronlu zincirde kortekse kadar iletim yolu.	10
2.2. Dorsal boynuza giden primer afferent nöronların organizasyonu	13
2.3. Nosisseptif çıkıcı sistemlerin şematik görünümü	17
2.4. Nosisseptif inisi sistemlerin şematik görünümü	20
3.1. <i>V. exuberans</i> bitkisi	53
3.2. <i>V. exuberans</i> bitkisinin Soxhlet ekstraktöründe ekstre edilmesi.	54
3.3. <i>V. exuberans</i> ekstresine ait sıvı-sıvı ekstraksiyonu.	54
3.4. <i>V. exuberans</i> bitkisine ait sulu ekstrenin yoğunlaştırılması.	55
3.5. <i>V. exuberans</i> bitkisine ait sulu ekstrenin liyofilizasyonu.	56
3.6. <i>Tail clip</i> testi ve Bulldog clamp.....	59
3.7. <i>Tail flick</i> testi.	60
3.8. <i>Hot plate</i> testi.	61
3.9. Serum TNF- α düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan standard eğri grafiği.....	63
3.10. Serum IL-1 β düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan standard eğri grafiği.....	64
4.1. <i>V. exuberans</i> ekstresine ait <i>Tail clip</i> testi sonuçları	66
4.2. <i>V. exuberans</i> ile kombine verilen ilaç gruplarına ait <i>Tail clip</i> testi sonuçları	67
4.3. <i>V. exuberans</i> ekstresine ait <i>Tail flick</i> testi sonuçları.....	68
4.4. <i>V. exuberans</i> ile kombine verilen ilaç gruplarına ait <i>Tail flick</i> testi sonuçları	68
4.5. <i>V. exuberans</i> ekstresine ait <i>Hot plate</i> testi sonuçları	69
4.6. <i>V. exuberans</i> ile kombine verilen ilaç gruplarına ait <i>Hot plate</i> testi sonuçları.....	70
4.7. <i>V. exuberans</i> ekstresine ait asetik asit ile oluşturulan writhing testi sonuçları	71
4.8. <i>V. exuberans</i> ile kombine verilen ilaçların asetik asit ile oluşturulan writhing testi sonuçları	72
4.9. Grupların saatlere göre ödem miktarlarını gösteren çizgi grafiği.....	74
4.10. Grupların saatlere göre ödem miktarlarını gösteren sütun grafiği.....	75
4.11. Grupların saatlere göre serum TNF- α düzey sonuçları	77
4.12. Grupların saatlere göre serum IL-1 β düzey sonuçları	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Ağrı terminolojisi	3
2.2. Ağrının sınıflandırılması	4
2.3. Periferik sinir liflerinin Erlanger/Gasser'e göre (afferent ve efferentler) klasifikasyonu	7
3.1. Antinoseptif etkinliğin belirlenmesi için oluşturulan deney grupları	57
3.2. Antiinflatuvar etkinliğin belirlenmesi için oluşturulan deney grupları	57
3.3. Antinoseptif etkinliğin belirlenmesinde kullanılan maddelerin uygulanma protokolü	59
3.4. Antiinflatuvar etkinliğin belirlenmesinde kullanılan maddelerin uygulanma protokolü.....	62
4.1. <i>V. exuberans</i> türünün lokalitesi	65
4.2. <i>V. exuberans</i> ekstresinin verimi	65
4.3. Santral ve periferik antinoseptif aktivite testlerine ait betimsel istatistikler	72
4.4. Antiinflatuvar aktivite modeline göre gruplara ait betimsel istatistikler	76

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler Dizini**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
γ	Gamma
κ	Kappa
Ca^{+2}	Kalsiyum iyonu
CCl_4	karbon tetraklorür
K^+	potasyum iyonu
KCl	potasyum klorür
Mg	Magnezyum
m	Metre
μ	Mikro
μl	Mikrolitre
ml	Mililitre
Na^+	sodyum iyonu
%	Yüzde

Kısaltmalar Dizini

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
AA	Araşidonik asit
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
ALT	alanin aminotransferaz
ALP	alkalin fosfataz
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metilzoksazol-4-propiyonik asit
AST	aspartat aminotransferaz
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BChE	Butirilkolinesteraz
BHT	butil hidroksi tolüen
cGMP	siklik guanozin monofosfat
CGRP	kalsitonin geni ile ilişkili peptid
COX	Siklooksijenaz
CYP2D6	spartein oksijenaz
CYP450	sitokrom p450
DHT	Dihidrotestosteron
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
FRAP	demir (III) iyonu indirgeme gücü
GABA	γ -aminobütirik asit
H ₁	histamin 1
5-HT	serotonin, 5-hidroksitriptamin
HPLC	yüksek performanslı sıvı kromatografi
IASP	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı
ICAM-1	interselüler hücre adhezyon molekülü-1
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
IP-10	indüklenebilen protein-10
İTK	ince tabaka kromatografisi

Kısaltmalar Dizini (devam ediyor)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
KA reseptörleri	kainat reseptörleri
LT	Lökotriyen
Lateral STT	neospinotalamik yol
LPO	Lipooksijenaz
LFA-1	lenfosit fonksiyon antijeni-1
L-NAME	nitro-L-arginin metil
L-NMMA	N ^G -monometil-L-arginin
L-NOARG	N ^G -Nitro L-arginin
M ₁ metaboliti	O-desmetiltramadol metaboliti
Medial STT	paleospinotalamik yol
MIC	minimum inhibisyon konsantrasyon
MPLC	medyum basınçlı likid kromatografisi
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NA	Noradrenalin
NMDA	N-metil-D-aspartik asit
TNF	tümör nekroz faktörü
TPA	12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat
VPL	ventral posterolateral
VPM	ventral posteromedial
WDR	wide dynamic range, Geniş dinamik alanlı nöronlar
GABA	γ -aminobütirik asit
MMP	matriks metalloproteinaz
ECM	ekstraselüler matriks
TGF	transforme edici büyüme faktörü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı, insana son derece sıkıntı veren, hayatını kısıtlayan ve en çok korkulan durumlardan birisidir. Ağrı ve ağrının giderilmesi insanoğlunun var oluşundan beri önemli bir uğraşı alanı olmuştur. Bilimin ve bilimsel yöntemlerin gelişmesine paralel olarak ağrı mekanizmalarının anlaşılması ve analjezi yöntemlerinin geliştirilmesi, araştırmacıların en büyük ilgi alanlarından biri olmaya devam etmektedir.

Son yıllarda sentetik ilaçların insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin ortaya çıkması ve bazı durumlarda bu tür ilaçların ağrı ya da inflamasyon tedavilerine karşı yeterli olmamaları nedeniyle bunların yerine kullanılabilir bitkisel droglar, bitkisel ilaçlar ya da bitkisel kaynaklı ilaç hammadde arayışları hızla devam etmektedir. Bu nedenle ilaç uygulama sistemleri hala doğal ve daha etkili olabilecek ilaç ve tedavi protokollerinin arayışı içerisindeyler. Sığırkuyruğu olarak bilinen *Verbascum* L. türlerinin ekstre, dekoksasyon ve infüzyonları, çok eski zamanlardan beri hemen hemen tüm dünyada halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Yayınlanan çalışmalarda, bazı *Verbascum* türlerinin kullanılışları (ekspektoran, mukolitik, demulsan, diüretik, solunum yolu rahatsızlıkları, yaralar, mantar enfeksiyonları, kan dindirici, diyare ve diyabet tedavisinde) ve biyolojik aktiviteleri (antiviral, antimikrobiyal, antimalaryal, antioksidan, antiinflamatuvar, antinosiseptif, antitümör, antikanser, immunomodulator, antiülserojenik, antihepatotoksik, antihiperlipidemik ve antitussif aktiviteler) belirlenmiştir (Tatli ve Akdemir, 2006; Akdemir vd., 2011; Arituluk ve Ezer, 2012). Ayrıca, *Verbascum thapsus* L., *V. phlomoides* L. ve *V. densiflorum* Bertol. (*V. thapsiforme* Schrad) Avrupa ve İngiliz farmakopeleri ve Komisyon E monograflarında bulunan ve ilaç geliştirmede kaynak olarak düşünülen bitkiler arasında yer almaktadır.

Ülkemizde yayılış gösteren ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı *Verbascum* türlerinin etnobotanik kullanımlarını açıklamak üzere çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu bağlamda, *V. lasianthum* Boiss ex Benth, *V. pterocalycinum* Hub.-Mor. var. *mutense* Hub.-Mor., *V. salviifolium* Boiss., *V. chionophyllum* Hub.-Mor., *V. pycnostachyum* Boiss. & Heldr., *V. latisepalum* Hub.-Mor. ve *V. mucronatum* Lam.

bitkilerinin çeşitli kısımlarından hazırlanan ekstrelerin ve söz konusu bitkilerden izole edilen bazı sekonder bileşiklerin *in vivo* antinosiseptif ve/veya antiinflamatuvar aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Kupeli vd., 2007; Kupeli-Akkol vd., 2007; Tatli vd., 2008a; Tatli vd., 2008b; Akdemir vd., 2011).

Bu bilgiler ışığında, Manisa yöresinde endemik olarak yetişen *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. türünün topraküstü kısımlarından elde edilen sulu ekstrenin akut santral ve periferik antinosiseptif etkinliğini, bu etkide serotonerjik, nitreerjik ve opiyoderjik yollar üzerindeki rolünü ve akut antiinflamatuvar aktivitesini belirlemek üzere *in vivo* hayvan deneyi modelleri uygulanarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrının Tanımı, Terminolojisi ve Sınıflandırılması

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Teşkilatı (IASP)'na göre ağrının tanımı "Vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, gerçek ya da olası bir doku hasarı ile birlikte bulunan, hastanın geçmişteki deneyimleri ile ilgili, hoş olmayan duyuşsal ve emosyonel bir deneyimdir." Bu tanımlamadan da anlaşılacağı gibi ağrı objektif, subjektif, duyuşsal ve psikojenik komponentleri içermektedir. Bu nedenlerle ağrılı uyarana karşı yanıt kişiden kişiye değişmekte, hatta aynı kişide bile farklı olabilmektedir (Erdine, 2007). Ağrı, koruyucu, uyarıcı ve haber vericidir. Hem tehlikeyi haber verir, hem de tehlikeyi önleyecek yolları bulması için canlıyı uyarır (Marangoz, 1993). Ağrı, farklı semptomlar eşliğinde karşımıza negatif ya da pozitif bulgularla çıkabilir. Nörolojik semptomlar ağrıya eşlik ederek farklı klinik tablolar oluşturur. Bu semptomları açıklayabilmek amacıyla ağrı terminolojisi geliştirilmiştir (Çizelge 2.1) (Dworkin, 2002; Aydemir, 2007; Kayhan, 2007; Morgan vd., 2008a).

Çizelge 2.1. Ağrı terminolojisi.

Ağrı eşiği	Kişide ağrıya neden olan en küçük stimulusun şiddeti.
Ağrı tolerans seviyesi	Kişinin tolere etmeye hazır olduğu, ağrıya neden olan en büyük stimulus.
Allodini	Ağrılı olmaması gereken dokunmayı ağrı olarak algılama.
Analjezi	Ağrılı stimülasyonun oluşturduğu ağrı duyusunun olmaması.
Anesthesia dolorosa	Duyu kaybı olan bir anestetik bölge veya alanda oluşan ağrı.
Disestezi	Uyarı ile ya da uyarı olmadan meydana gelen hoş olmayan anormal duyu.
Hiperalezi	Ağrılı ve zararlı stimülusa karşı duyarlılığın ve cevabın artması.
Hiperestezi	Ağrılı stimülasyona duyarlılığın artması.
Hiperpati	Hiperalezi, allodini, hiperestezi ve aşırı reaksiyonla karakterize, uyarı kesildikten sonra da duyunun devam ettiği ağrılı sendrom.
Hipoalezi	Ağrılı stimülusa duyarlılığın ve cevabın azalması.
Hipoestezi	Stimülasyona karşı duyarlılığın azalması.
Kozalji	Periferik sinirdeki travmatik bir lezyondan sonra devam eden yanıcı ağrı.
Nosiseptör	Ağrılı veya potansiyel olarak ağrılı stimülusa karşı duyarlı spesifik reseptör.
Nöralji	Bir sinirin dağılım alanında görülen, tekrarlayıcı, şiddetli ve genelde ilgili dermatomun uyarılması ile başlayan ağrıdır.
Nörit(is)	Sinir inflamasyonu.
Nöropati	Bir sinirdeki patolojik değişiklik veya fonksiyonundaki bozukluk.
Parestezi	Belirli bir bölgede, bir uyarı olmadan, spontan olarak iğnelenme, karıncalanma veya uyuşma hissedilmesidir.
Santral ağrı	Bir santral sinir sistemi lezyonu ile birlikte olan ağrı.

Ağrı çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. En sık kullanılan sınıflama Çizelge 2.2’de gösterilmiştir. Çizelgeye göre ağrı dört sınıfa ayrılmaktadır (Ray, 2007).

Çizelge 2.2. Ağrının sınıflandırılması.

<ol style="list-style-type: none"> 1. Nörolojik mekanizma <ol style="list-style-type: none"> a. Nosiseptif b. Somatik c. Visseral d. Nöropatik <ol style="list-style-type: none"> i. Nöropatik ii. Merkezi iii. Periferik e. Psikojenik 2. Süreye bağlı <ol style="list-style-type: none"> a. Akut b. Kronik 3. Etiyolojik <ol style="list-style-type: none"> a. Kanser ağrısı b. Postherpetik nevralji c. Orak hücre anemisine bağlı ağrı d. Artrit ağrısı 4. Bölgesel ağrı <ol style="list-style-type: none"> a. Baş ağrısı b. Yüz ağrısı c. Bel ağrısı d. Pelvik ağrı

2.1.1. Nosiseptif ağrı

Doku hasarı sonucu salınan medyatörlerin özel sinir uçlarını uyarmasıyla meydana gelen ağrıdır (Aşık, 2010a). Bu özelleşmiş sinir uçlarına ‘nosiseptör’ adı verilir. Uyarılar medulla spinalise, talamusa ve oradan da serebral kortekse iletilir (Aydın, 2002; Ray, 2007). Nosiseptif sınıflama somatik ve visseral olarak ikiye ayrılır. Aralarındaki fark ise somatik ağrının duyuşal liflerle visseral ağrının ise sempatik liflerle taşınmasıdır (Ray, 2007).

2.1.2. Visseral ağrı

Bir iç organ veya onun kılıfının hastalığı ve/veya fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak oluşur (Morgan vd., 2008a). Visseral ağrının en önemli beş özelliği aşağıda verilmiştir (Aşık, 2012).

- 1) Her organda oluşmaz. Örneğin karaciğer, böbrek, akciğer parankimi ağrıya duyarlı değildir.
- 2) Her zaman doku hasarı ile ilişkili değildir.
- 3) Yaygındır ve lokalizasyonu kolay değildir.
- 4) Başka yerlere yayılabilir.
- 5) Motor ve bulantı, kusma, kan basıncı, kalp hızında değişiklikler gibi otonom refleksler eşlik eder.

2.1.3. Somatik ağrı

Yüzeyel ve derin ağrı olarak ikiye ayrılır.

1) Yüzeyel somatik ağrı: Deri, deri altı dokular ve müköz membranlardan kaynaklanır. İyi lokalize edilir. Keskin ve batıcı tarzdadır.

2) Derin somatik ağrı: Eklem, kemik ve tendonlardan kaynaklanır. Künt ve sızlama şeklindedir. Lokalizasyonu zordur (Morgan vd., 2008a; Aşık, 2010a).

2.1.4. Nöropatik ağrı

Nonnosiseptif ağrı için en yaygın kullanılan terminolojidir. Nörolojik bir yapının ve/veya işlevin değişmesi ile ortaya çıkan bir ağrı tipidir ve bu ağrı tipinde sürekli bir nosiseptif uyarı bulunmamaktadır (Ray, 2007). IASP, nöropatik ağrıyı santral sinir sisteminde fonksiyon bozukluğu veya primer lezyonun başlattığı veya neden olduğu ağrı olarak tanımlamıştır (Bennett vd., 2007; Uyar ve Eyigör, 2012). Hasardan ya da şiddetinden bağımsız olarak devam edebilir ve hatta zaman içerisinde şiddetlenebilir (Yücel, 2010).

Nöropatik ağrılı hastalar klinikte farklı semptomlar sergilerler. Semptomlar negatif ve pozitif semptomlar olarak ikiye ayrılır. Negatif semptomlar, hipoestezi, hipoaljezi,

termohipoestezi, pozitif semptomlar ise parestezi, elektrik çarpması, keskin ağrı ve yanıcı ağrıdır (Attal, 2000).

2.1.5. Psikojenik ağrı

Anksiyete ve depresyon gibi psikojenik sorunlarda, doku hasarı varmış gibi algılanmanın olduğu ağrı çeşididir (Aydın, 2002). Bu tanıyı koymadan önce tüm somatik patolojiler dışlanmalı ve hasta deneyimli bir psikiyatristin kontrolünden geçmelidir (Ray, 2007).

2.1.6. Akut ağrı

Akut ağrı, travma, cerrahi, akut hastalığa eşlik eden kimyasal ya da mekanotermal stimullara gösterilen fizyolojik cevap olarak tanımlanır (Aşık ve Çakar-Turhan, 2010). Başlangıcı anidir ve hemen her zaman nosiseptif niteliktedir. Doku hasarıyla başlar, iyileşme süresince giderek azalır ve kaybolur. Ağrıya sebebiyet veren hasar ile ağrı arasında, yer, şiddet ve zaman açısından yakın ilişki vardır (Aydın, 2002). Ağrıya yanıt, kişiden kişiye ve hatta aynı kişide, farklı zamanlarda değişebilmektedir. Çoğu kendiliğinden ya da tedavi ile birkaç gün ya da hafta içerisinde geçer. Akut ağrı yeterince tedavi edilemezse kronikleşebilir (Loeser ve Melzack, 1999; Aşık ve Çakar-Turhan, 2010).

2.1.7. Kronik ağrı

Tedavi yöntemleri ile ya da doğal yoldan giderilme ile çok az değiştirilebilen inatçı ağrıdır (Uyar ve Eyigör, 2012). Doku hasarı ortadan kalksa bile ağrı devam eder. Tedavisi akut ağrıya göre çok daha komplikedir. Çoğu kez nosiseptif niteliktedir ancak nöropatik ya da ikisinin kombinasyonu şeklinde de olabilir. Psikolojik mekanizmalar ve çevresel faktörler önemli rol oynar (Morgan vd., 2008a). Sempatik tonus artışı ve nöroendokrin fonksiyonlardaki artış belirgindir (Aydın, 2002).

2.2. Akut Ağrının Nöroanatomisi ve Nörofizyolojisi

2.2.1. Primer afferent nosiseptörler

İngiliz fizyolog Sir Charles Scott ilk kez 1898’de ‘nosisepsiyon’ kavramını ileri sürmüştür (Erdine, 2010). Doku hasarı sonucu ağrının algılanmasıyla sonlanan kompleks olayların tümüne ‘nosisepsiyon’ denir (Aşık, 2012).

Serbest sinir uçları olan nosiseptörler, noksiyus uyarıları algılayıp ileten reseptörlerdir (Aşık, 2012). Nosisepsiyon terimi Latince kökenli olan ‘nosi’ kelimesinden gelmektedir. ‘Nosi’, zarar ve yaralanma anlamına gelir. Nosisepsiyonların tamamı ağrı oluşturur ancak her ağrı nosiseptif nitelikte değildir (Morgan vd., 2008a).

Periferik sinirler iletim hızlarına, çaplarına, myelinizasyon derecelerine ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar. Çeşitli klasifikasyonlar kullanılır ancak en sık kullanılanı Erlanger/Gasser klasifikasyonu’dur (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Periferik sinir liflerinin Erlanger/Gasser’e göre (afferent ve efferentler) klasifikasyonu (Aşık, 2012).

Lif grubu	İnnervasyon	Ortalama çap (µm)	Ortalama iletim hızı (m/sn)
Aα (alfa)	İskelet kasında primer kas içiği (motor)	15 (12-20)	100 (70-120)
Aβ (beta)	Kütanöz doku ve basınç afferentleri	8 (5-15)	50 (30-70)
Aγ (gamma)	Kas içiği motor	6 (6-8)	20 (15-30)
Aδ (delta)	Mekanoreseptör, nosiseptör	<3 (1-4)	15 (12-30)
B	Sempatik pregangliyonik	3 (1-3)	7 (3-15)
C	Mekanoreseptör, nosiseptör, sempatik postgangliyonik	1 (0,5-1,5)	1 (0,5-2)

Ağrı ileten nosiseptörler genel olarak ikiye ayrılırlar (Marangoz, 1993).

❖ Derinin Aδ tipi mekanotermal reseptörler: İnce miyelinli lifler olup, uyarı hızları 5-30 m/sn'dir. Aktivasyonları keskin, iğneleyici ve iyi lokalize edilebilen ağrı oluşturur (Aydın, 2002). Uyarın karşısında meydana gelen akut nosisepsiyonun hissedilmesinden sorumludur (Aşık, 2012). Uyarılma eşikleri somatik mekanoreseptörlerden 5-1000 kat daha fazladır (Marangoz, 1993).

❖ Polimodal C nosiseptörleri: Bu reseptörler şiddetli kimyasal, mekanik, sıcak ve soğuk uyarılarla aktive olurlar (Aşık, 2012). Miyelinsiz ve ince liflerdir. İmpulsları 0,5-2 m/sn gibi yavaş bir hızda iletilir. Yanıcı, künt ve zor lokalize edilen ağrıdan sorumludur ve hiperesteziye yol açar (Aydın, 2002). Bu ağrıya 'ikinci ağrı' da denir (Aşık, 2012).

Bir doku hasarı sonrasında bu sinir uçları, ortaya çıkan bradikinin, prostaglandin (PG)'ler, lökotriyen (LT)'ler, substans P, asetil kolin (ACh), histamin, hidrojen iyonu (H⁺) ve potasyum iyonu (K⁺) gibi aljezik maddeler tarafından stimule edilir ve üst merkezlere iletilir. Bu sayede noksiyus elektriksel enerjiye çevrilmiş olur (Aşık, 2012).

Nosiseptör aktivasyonu süresince başka etkenler de işin içine girmektedir. Doku hasarı, bölgedeki inflamatuvar süreci başlatır ve çeşitli medyatörler salgılanır.

2.2.2. Periferik sensitizasyon

Periferik sinir lezyonları ile ilgili çeşitli periferik mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlardan en sık üzerinde durulan ise nosiseptif liflerde oluşan spontan anormal aktivitedir (Attal, 2000; Aşık, 2012). Hasar gören bölgelerde meydana gelen inflamasyon sonucu makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerinden salınan medyatörler nosiseptörlerin deşarj eşiğini düşürürler. Nosiseptörlerin deşarj eşiğinin düşmesine **hiperaljezi** denir. Zedelenmiş odakta eşiğin düşmesine **primer hiperaljezi**, odak çevresindeki sağlam dokuda eşiğin düşmesine **sekonder hiperaljezi** denir (Marangoz, 1993). Nosiseptif uyarı sonucu da substans P, nörokinin A, kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP), bradikinin, noradrenalin (NA) ve histamin salınımı olur. Salınan tüm bu maddeler, sensoryal ve sempatik sinir liflerinde uyarılma değişikliklerine, damarlarda vazodilatasyona, plazma proteinlerinin damar dışına çıkmasına ve inflamatuvar hücrelerin çeşitli medyatörler salgılamasına neden olur. K⁺,

serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), substans P, nitrik oksit (NO), siklooksigenaz (COX) ve lipooksigenaz (5-LO) yollarındaki inflamatuvar medyatörlerin salgılanması sonucu olarak da yüksek eşikli nosiseptörler uyarılır ve periferik sensitizasyon meydana gelir (Yılmaz ve Ergin, 2006; Erdine, 2007; Aşık, 2010b).

Nosiseptörlerdeki bu uyarılmaların temelinde membran uyarılabilirliğini kontrol eden sodyum (Na⁺) kanallarının gen ekspresyonu bozukluğu ve disregülasyonu vardır. Analjeziklerin keşfindeki hedef nokta da bu Na⁺ kanalları olmuştur (Attal, 2000).

Periferik sensitizasyonun diğer bir sebebi de sinir hasarı oluşumdur. Sinir hasarı sonucu oluşan demiyelinizasyon ektopik deşarjlar meydana gelmesine neden olur (Yücel, 2010).

2.2.3. Nosisepsiyon aşamaları

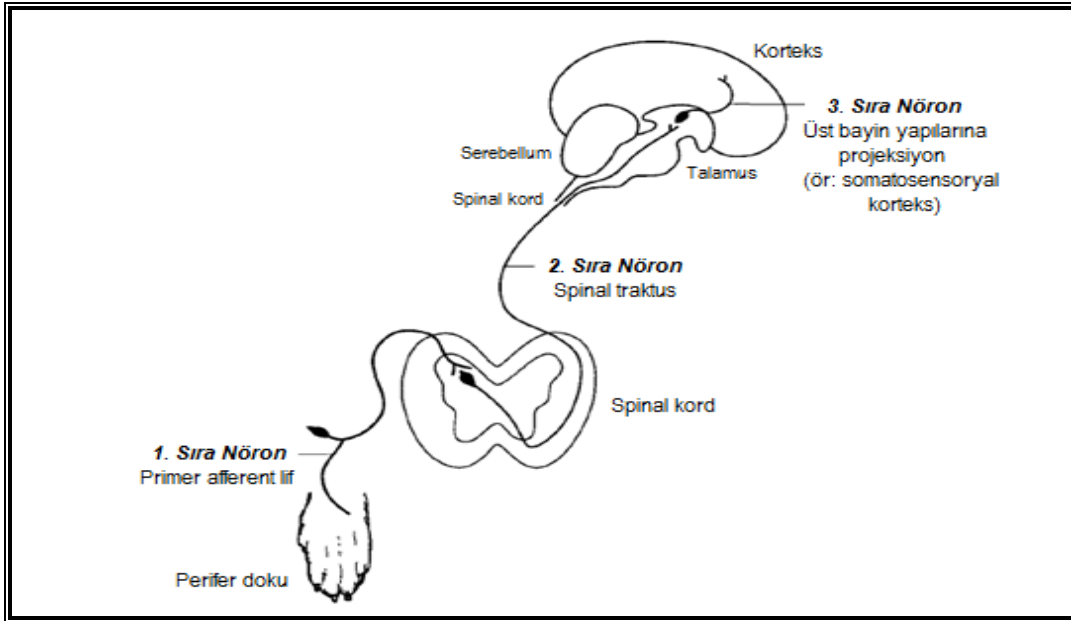
Nosisepsiyon, transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon olmak üzere dört aşamadan oluşur (Erdine, 2007; Aşık, 2010b; Aşık, 2012):

2.2.3.1. Transdüksiyon

Transdüksiyonda bir enerji başka bir enerjiye dönüştürülür (Erdine, 2007). Bu, noksiyusun elektrik sinyaline çevrilmesi ile olur (Aşık, 2012).

2.2.3.2. Transmisyon

Meydana gelen ağrı uyarısının A δ ve C nosiseptif lifleri ile periferden santrale, daha üst merkezlere iletilmesine transmisyon denir. Bu iletim, üç sinir içeren yolak ile yapılır (Sekil 2.1). Birinci nöron primer afferent nöronudur ve bu nöronun gövdesi dorsal kök gangliyonda, aksonlarından biri de innerve ettiği periferik dokuda yer alır. Primer afferent nöronlar spinal korda girerken kalınlıklarına göre ayrılırlar. İnce miyelinsiz lifler lateralde, kalın miyelinli lifler medialde toplanırlar (Morgan vd., 2008a). Spinal kord seviyesinde ikinci nöron ile sinaps yaparlar. İkinci nöronlar orta hattı geçip karşı taraf spinotalamik traktus ile talamusa kadar giderler. Talamik nukleusta, 2. nöron 3. sıra nöron ile sinaps yaparlar. Üçüncü sıra nöron ise internal kapsül ve korona radiatadan geçerek serebral korteks postsantral girusta sonlanırlar (Esener, 1983; Aşık, 2012).



Şekil 2.1. Nosiseptif uyarının üç nöronlu zincirde kortekse kadar iletim yolu (Lamont vd., 2000).

2.2.3.3. Modülasyon

Nosiseptif transmisyonun nöral etkenlerle, spinal kord seviyesinde modifiye edilmesidir (Aydın, 2002; Erdine, 2007). Modülasyonun gerçekleştiği en önemli yer spinal kord dorsal boynuz'dur (Aşık, 2012). Bu modülasyon, lokal inhibitör internöronlarla ya da desendan inhibitör yolaklarla (Cousins ve Power, 2006) ve inhibitör nörotransmitterler aracılığı ile olur. Bu nörotransmitterler, presinaptik ve postsinaptik bölgelerde lokalize olan opioid, α -adreno, γ -aminobütirik asit (GABA) ve glisin reseptörlerine etkili ajanlardır (Cousins ve Power, 2006; Aşık, 2012). 1965 yılında Melzack ve Wall, kapı kontrol teorisi ile ağrılı uyarının omurilikte uğradığı engeli açıklamışlardır (Esener, 1983).

❖ Kapı kontrol teorisi

Bu teori ilk kez 1965 yılında Melzack ve Wall tarafından geliştirilmiştir (Esener, 1983). Teoriye göre, ağrılı uyarılar, ağrı şeklinde algılanmadan önce, bir kapı kontrol

mekanizması ile düzenlenmektedir. Kapı kontrol teorisinin açıklanmasında en önemli laminalar 2., 3. ve 5. laminalardır. İkinci ve üçüncü laminadaki hücreler substansiya gelatinosa (SG)'yı oluşturmaktadır. Ciltten gelen afferent uyarıların çoğu burada sonlanmaktadır. Teoriye göre SG hücreleri 5. laminaya gidecek uyarıları modüle ve regüle etmektedir. Beşinci laminada, sensoryal bilgiyi beyne iletmekten sorumlu transmisyon (T) hücreleri bulunmaktadır. SG hücreleri T hücreleri üzerinde inhibisyon yaparak fren işlevi görmektedir. Bu bilgiler dahilinde kapı kontrol teorisi şu aşamalarda toparlanabilir:

- 1) Afferentlerle taşınan uyarıların lamina 5'e ulaşması, SG hücreleri tarafından düzenlenmektedir. SG hücrelerinin lamina 5'teki T hücreleri üzerinde frenleyici etkisi vardır.
- 2) Kapı, kalın ve ince liflerin aktiviteleri ile kontrol edilmektedir. SG hücreleri, kalın lifler tarafından uyarıldığında iletimleri inhibe edilmekte, yani kapı kapanmakta; ince lifler tarafından inhibe edildiğinde ise iletimleri kolaylaşmakta yani kapı açılmaktadır.
- 3) Ağrıyla ilgili bilginin iletilmesinde en önemli görevi T hücreleri yapmaktadır. Dokunma ve ısı duyularını taşıyan kalın lifler hem SG hem de T hücrelerini aktive eder. Bu şekilde uyarılan SG hücreleri T hücrelerini inhibe eder. Bu nedenle T hücrelerinin kalın lifler tarafından doğrudan uyarılması kısa sürer.
- 4) Ağrılı uyarıyı taşıyan ince sinir lifleri ise SG hücrelerini inhibe ederken T hücrelerini aktive eder ve bu uyarılar daha şiddetli olmakta ve daha uzun sürmektedir.
- 5) Burada amaç ağrının yukarı iletilmesini önleyici etkisi olan kalın lifler boyunca uyarıyı arttırmaktır. Herpes zoster ve benzeri nöropatilerde olduğu gibi, kalın periferik sinirlerin dejenerasyonunda, kapı ince liflerin göreceli üstünlüğü ile açılır ve hastaların şiddetli ağrı duymalarına neden olur.
- 6) Kalın liflerle iletilen uyarıların bir kısmı da dorsal kolon içerisinde ilerleyerek talamusa ulaşır (Kayhan, 2007).

2.2.3.4. Persepsiyon (Algılama)

Omuriliğe geçen uyarıların çeşitli çıkan yollarla üst merkezlere iletilmesi ve algılanmasıdır (Keskinbora ve Aydın, 2006). Bunun sonucunda ağrının fiziksel ve duygusal deneyimi meydana gelir (Willis ve Westlung, 1997; Aşık, 2012).

2.2.4. Omurilik dorsal boynuz nöronal sistemi

Omurilik dorsal boynuzu taşıdığı hücre tiplerine, afferent bağlantılara ve histokimyasal özelliklere göre laminalara ayrılmaktadır (Aşık, 2012). Laminaların ve primer afferent nöronların organizasyonu Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Lamina 1: Marjinal tabaka da denilen lamina 1 en dışta bulunur. Küçük çaplı afferent liflerden gelen ağırlı impulsları alır. Çok az sayıda büyük hücre içerir. Bu hücreler A δ ve C lifleri ile iletilen mekanik basıya bağlı uyarıları alırlar.

Lamina 2 ve 3: SG olarak da adlandırılan bu laminalar küçük hücreler içerir ve ciltten gelen birçok afferent lif burada sonlanır. Gelen uyarıların beyne iletilmesini sağlayan T hücrelerine (lamina 5’te bulunur) uyarı geçişini düzenleyen bir ara sistemdir. T hücrelerine negatif etki göstererek inhibitör bir mekanizma gibi davranır.

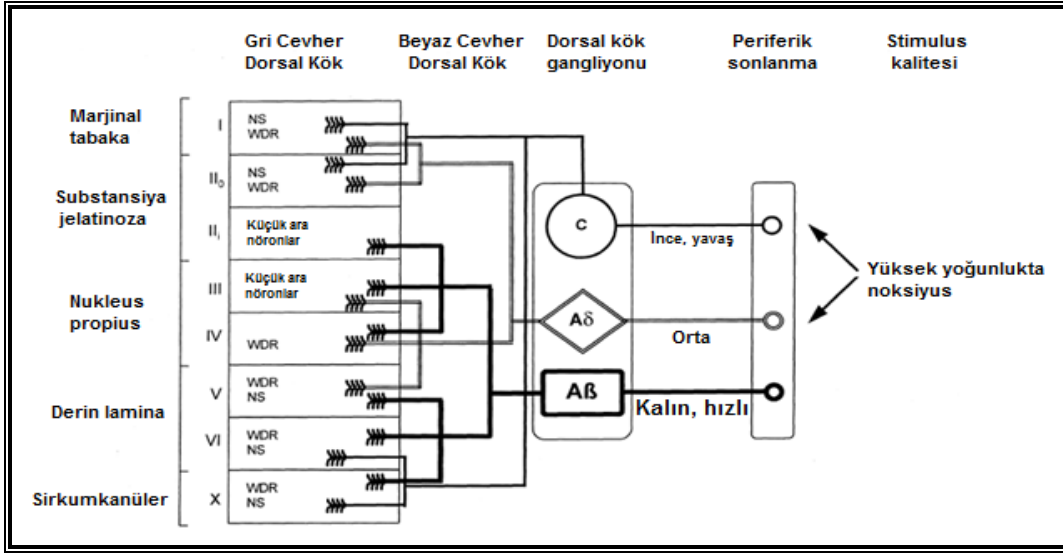
Lamina 4: Bu tabaka, lokalize dermal alanlardan gelen ve ağrı oluşturmeyen sensoryal impulsları taşıyan kalın afferent lifleri alır.

Lamina 5: Ağrılı stimuluslara çok duyarlı olan hücreleri içeren bu tabaka, iç organ, kas, damarlar ve derin dokulardan A δ ve C lifleri ile gelen uyarıları alırlar. Hem lamina 2 hem de üst merkezlerle ilişki içerisindedir.

Lamina 6: Kas, tendon ve eklemlerden gelen propriyoseptif duyu geniş çaplı A β ve A γ lifleri ile taşınarak bu tabakada sonlanır.

Lamina 7-9: Ön boynuz parçasıdır ve hücreleri ağrı iletimini sağlayan assendan liflere katılırlar.

Lamina 10: Bu tabakadaki hücreler santral kanal etrafında yoğunlaşırlar ve yüksek şiddetteki stimuluslara cevap verirler.



Şekil 2.2. Dorsal boynuzda giden primer afferent nöronların organizasyonu (Millan, 1999).

*WDR: Wide dynamic range (geniş dinamik alanlı nöronlar, NS: Nosiseptif nöronlar.

Ağrı stimulusu primer afferent lifler (A δ ve C) aracılığı ile omurilik dorsal boynuzda taşınır ve burada sonlanır. Afferent lifler Lissauer yoluna girerek spinal kordu dorsal boynuz yoluyla geçer. Arka boynuzdaki nöronlar üç çeşittir (Aydın, 2002).

❖ Projeksiyon nöronları (Santral geçiş hücreler):

- Nosiseptif spesifik nöronlar: Daha çok Lamina 1 ve 2’de ve az miktarda da Lamina 5’te bulunurlar ve sadece A δ ve C lifleri ile uyarılırlar (Giordano, 2006).
- Wide dynamic range (WDR) nöronlar (Geniş dinamik alanlı nöronlar): Uyarılara geniş bir stimulus yoğunluğunda ve dereceli bir şekilde cevap verirler (Aşık, 2012). Bu nöronlar, lamina 1, 2, 5 ve 6’da yüksek miktarda bulunurlar. A β , A δ ve C liflerinden sinaps yaparlar (Giordano, 2006). Reseptif alanları deri, kas ve iç organları içerir. Bu nedenle bu hücreler konverjansı, afferent uyarı yoğunluğuna ve lokalizasyona göre ayarlayarak uyarı trafiğini düzenlerler. Somatik ve visseral yapılardan kaynaklanan aksonların konverjansı sonucu ‘yansıyan ağrı’ meydana gelir (Aşık, 2012).

❖ **Eksitator nöronlar:** Ağrılı uyarıyı projeksiyon nöronlarına ileterek eksite olmalarını sağlarlar.

- ❖ **İnhibitör nöronlar:** Geniş çaplı lifler ile uyarıldıklarında projeksiyon nöronlarını inhibe ederler. Çoğunlukla A δ ve C lifleri tarafından aktive edilirler (Aydın, 2002).

Arka boynuzda ağrı iletim sürecinde çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatörler de görev almaktadır.

2.2.5. Santral sensitizasyon

Periferik sensitizasyon ve primer hiperaljezi oluştuktan sonra ağrısız olan mekanik uyarılara karşı hassasiyet (allodini) meydan gelebilir (Yılmaz ve Ergin, 2006). Patolojik nosiseptif uyarılar sıklıkla santral nöronlarda artmış uyarılmaya ve sensitizasyona neden olmaktadır. Santral sinirlerin duyarlılığı arttığında, uyarılması beklenen alanların yakınlarındaki zayıf impulslar bile spinal kordu uyarmada yeterli olabilmektedir. Böylece eksite olan alanlar artmaktadır (Schaible ve Richter, 2004).

Ağrılı stimulusların uyarı boyunca tüm nöronal aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir. Spinal kord nöronal aktivitesinde ‘*wind up*’ (temporal sumasyon, ateşleme, kurgulanma) olayı meydana gelmektedir. C liflerinin tekrarlayıcı ve düşük frekanslı uyarılması deşarj frekansını arttırmakta ve bir süre sonra nöron sürekli deşarj haline geçmektedir (Yılmaz ve Ergin, 2006; Aşık, 2010b). *Wind up*, nöronları hassaslaştırdığı için santral sensitizasyonda önemli bir rolü vardır (Yılmaz ve Ergin, 2006).

Santral sensitizasyonda en önemli nörotransmitter glutamat’tır (Fundytus, 2001; Schaible ve Richter, 2004). *Wind up*; glutamat, N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör ve substans P mekanizmalarına bağımlıdır (Yılmaz ve Ergin, 2006).

Glutamat, spinal korddaki non-NMDA ve NMDA reseptörlerini uyarır (Schaible ve Richter, 2004). Hem iyonotropik reseptörlere (iGluRs: iyon kanallarına direkt bağlıdır) hem de metabotropik reseptörlere (mGluRs: intrasellüler sekonder habercilere ve G proteinlerine bağlıdır) etki eder. Bunlar NMDA reseptörleridir. α -amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-4-propiyonik asit (AMPA) ve kainat (KA) reseptörleri ise genellikle non-NMDA reseptörleri şeklinde anılırlar (Fundytus, 2001). Non-NMDA reseptörleri açıldığında içeri Na⁺ girişi olur ve nöronu depolarize eder. NMDA reseptörleri açıldığında ise içeri kalsiyum (Ca⁺²) girişi olur. Ca⁺², sekonder haberci kaskadını aktive eder ve

nöronal eksitabilitiyi arttırır. Dinlenme durumunda ve zayıf depolarizasyon durumunda NMDA reseptörü magnezyum (Mg) ile kapalıdır. Noksiyus stimülasyon sonrası hem NMDA hem de non-NMDA reseptörleri açılır. Bu nedenle NMDA antagonistleri santral sensitizasyonu engelleyebilirler (Schaible ve Richter, 2004).

Nöropeptidler ve spinal PG'ler de santral sensitizasyon oluşumunda önemli role sahiptir. Spinal korddaki birçok nöronda substans P, nörokinin A ve CGRP için reseptörler bulunmaktadır (Millan, 1999).

2.3. Nitrik Oksit ve Ağrı

Biyolojik ortamda NO, L-sitruilin ve nitrik oksit sentetaz (NOS)'ın katalizlediği bir reaksiyonla L-arginin ve moleküler oksijenden oluşur. Farklı NOS çeşitleri keşfedilmiştir.

- 1) Nöronal NOS (Tip 1 NOS/nNOS)
- 2) İndüklenebilir NOS (Tip 2 NOS/iNOS): İnflamasyonda ve bakteriyel enfeksiyon durumunda oluşur.
- 3) Endotelyal NOS (Tip 3 NOS/eNOS): Birçok dokuda fizyolojik olarak bulunur.

Tip 1 ve tip 3 NOS düşük miktarda NO üretimine neden olurken, üretimi intrasellüler Ca^{+2} miktarına bağlı olan tip 2 NOS ise hücreye ve organizmaya zarar verici düzeyde olabilir (Miclescu ve Gordh, 2009).

NMDA reseptörlerindeki Mg tıkaçı ortadan kalkıp reseptör aktive olduktan sonra NOS stimüle olur ve NO oluşur (Aydın, 2002). Bu durum, sekonder habercilerin sentezine [siklik guanozin monofosfat (cGMP)], eikosanoidler, fosfolipaz ve protein kinaz C gibi maddelerin aktivasyonuna yol açmaktadır (Erdine, 2007). Oluşan cGMP, cGMP bağımlı protein kinazları aktive eder (Cooke ve Dzau, 1997). Ayrıca, PG'ler ve NO medulla spinaliste uyarıcı aminlerin serbestleşmesini sağlamaktadır.

NO, apolar ve bu nedenle de membran permeabilitesi yüksek olan bir moleküldür. Yarılanma ömrü altı saniye kadardır (Sharma vd., 2007).

NO'in nosiseptif süreçteki rolü tam olarak belli değildir. Akut nosisepsiyonda çok önemli değildir ancak kronik ağrıda önem taşıyabilir. NO'in ağrı üzerinde, pozitif feedback

mekanizması ile etkili olduğu düşünülmektedir. Hayvan nöropatik ağrı modellerinde NO azalması ağrının azalmasına neden olmaktadır (Erdine, 2007).

NO oluşumu NOS inhibitörleri ile engellenebilir. Bu amaçla L-arginin analogları [L-N^G-Nitroarginin metil ester (L-NAME), N^G-monometil-L-arginin (L-NMMA), N^G-Nitro L-arginin (L-NOARG)] geliştirilmiştir. Bu maddeler, yalancı ön madde olarak NO sentezini engellemektedir (Sharma vd., 2007).

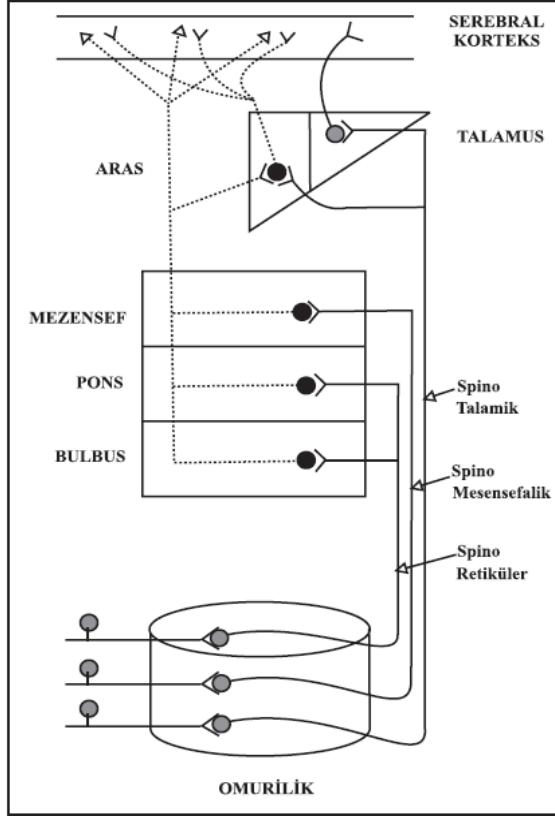
2.4. Nosisseptif Çıkıcı Sistemler

Ağrılı uyarıyı periferden alıp taşıyan liflerin hücre cismi (1. nöron) arka kökte bulunmaktadır. Buradan çıkan lifler spinal korda girer ve SG'da arka boynuz hücreleri ile (2. nöron) sinaps yaparlar. SG'da bulunan ara nöronlar presinaptik ve postsinaptik inhibisyon yoluyla 1. nöronun 2. nörona ağrılı uyarı geçişini baskı altında tutarlar (Kayhan, 2007). Dorsal boynuz nosisseptif impulsları supraspinal merkezlere çıkıcı sistemleri oluşturan projeksiyon sinirleri ile iletilirler (Lamont vd., 2000).

Uyarıların medulla spinalisten beyin sapına taşınmasında; spinotalamik, spinoretiküler, spinomezensefalik, dorsal kolon ve spinohipotalamik yollar görev almaktadır (Şekil 2.3) (Aydın, 2002).

2.4.1. Spinotalamik yol

Spinal kord anterolateral sütunu, çıkıcı transmisyonunda ve nosisseptif uyarının santral merkezlere taşınmasında önemli rol oynar. Spinotalamik (STT) yol nosisseptif transmisyonunda görevli en önemli çıkıcı yoldur (Kettner, 2008). Bu yol, lateral ve medial olarak bölünebilir. Lateral STT (neospinotalamik yol) talamus ventral posterolateral nükleusuna projeksiyon yollar. Ağrının yerleşimi, şiddeti ve süresi gibi duysal ve diskriminatif özellikleri ile ilgili bilgileri taşır. Medial STT (paleospinotalamik yol) ise medial talamusa, retiküler formasyon, periaquaduktal gri cevher, limbik sistem, hipotalamus gibi yapıları içeren beyin sapı ve orta beyin yapılarına projeksiyon yollar. Ağrının emosyonel algılanması ile ilgili özellikler iletir (Jay, 2007; Morgan vd., 2008a).



Şekil 2.3. Nosiseptif çıkıcı sistemlerin şematik görünümü (Aydın, 2002).

2.4.2. Spinoretiküler yol

Bu yol çapraz yapmış dorsal boynuz aksonlarından oluşur. Anterolateral çıkıcı sistem içerisinde ilerler. Bulbus ve ponsdaki retiküler çekirdek gruplarına uzanır veya kollateraller verir. Bilateral talamusun intralaminer çekirdeklerine ulaşırlar (Aydın, 2002). Bu yolun ağrıya karşı uyarıcı olduğu ve otonom refleks cevap ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Jay, 2007; Morgan vd., 2008a).

2.4.3. Spinomezencefalik yol

Spinomezencefalik yol anterolateral sistem içerisinde yer alır ve mezencefalik PAG'e kadar uzanır. Bu bağlantı nosisepsiyonda önemlidir çünkü bu bölgede analjezik özelliği olan enkefalinergic nöronlar bulunmaktadır (Aydın, 2002). PAG, hem çıkıcı hem inisi projeksiyonlar alan bir yerdir. Bu nedenle, homeostazis, limbik motor cevap ve çıkıcı

nosiseptif bilgi ile inisi antinosiseptif cevabın entegrasyonu ile ilişkilidir (Brenner ve Woolf, 2000).

2.4.4. Dorsal (Posterior) kolon yolu

Buradaki sinir lifleri medial ve ipsilateral den yukarı çıkarlar. Medulla oblongata dorsal kolon çekirdeği ile sinaps yaparlar. Bu lifler hafif dokunma, propriyosepsiyon ve visseral nosiseptif uyarıları taşırlar (Morgan vd., 2008a; Kettner, 2008).

2.4.5. Spinohipotalamik yol

Kas, tendon, eklem, deri ve organlardan alınan uyarıyı direkt olarak hipotalamusa taşır.

2.5. Supraspinal Merkezler, Talamokortikal Projeksiyon ve Korteks

2.5.1. Supraspinal merkezler

Spinal kord üzerinde birçok santral sinir sistemi bölgesi, çıkıcı nosiseptif ve inisi antinosiseptif yollarla ilişki içerisindedir (Jay, 2007).

Retiküler formasyon, spinal korda, diğer retiküler nöronlara, beyin sapındaki çeşitli duysal ve motor çekirdeklere, diensefalona ve serebral kortekse kollateraller gönderen izodendritik sinirlerin merkezini oluşturur (Lamont vd., 2000). Burası vücudun her iki tarafından gelen uyarıları alır (Jay, 2007). Retiküler hücreler, motor, otonomik ve duysal fonksiyonlara aracılık eder (Lamont vd., 2000). Talamus, diensefalonda yer alır (Kettner, 2008). Talamus, duysal uyarının serebral kortekse giderken uğradığı en önemli noktadır (Lamont vd., 2000). İkinci nöron, üçüncü nöronla burada sinaps yapar (Morgan vd., 2008a). Nosisepsiyonda rolü olan birçok önemli nukleus içerir (Lamont vd., 2000). Talamus medial ve lateral (ventrobazal) talamus olarak ikiye ayrılabilir (Kettner, 2008). Paleotalamus, medial ve intralaminar nukleusu içerir ve STT yoldan ve retiküler formasyondan uyarı alır. Büyük oranda serebral korteks ile bağlantılıdır. Burada, somatotropik yapı yoktur. Neotalamus, somatotropik yapılar içerir ve ventral posterolateral (VPL) çekirdek ile ventral posteromedial (VPM) çekirdeği içerir. Burası ağrının

lokalizasyonu, duysal ve diskriminatif özellikleri ile ilgilidir. Posterior talamus, STT yol, spinomezensefalik yol ve dorsal kolondan uyarılar alır (Jay, 2007).

Paleokorteks olarak da bilinen limbik sistem, ağrı nedenli emosyonel cevaptan sorumludur (Lamont vd., 2000; Jay, 2007).

2.5.2. Talamokortikal projeksiyon ve korteks

Kortikal yapılar, sensoryal diskriminatif (somatosensoryel korteks) ve affektif motivasyonel komponent (singulat korteks) olarak ayrılabilir (Yılmaz ve Ergin, 2006). Somatosensoryal korteks, ağrı duyusunun duysal ve diskriminatif özellikleri ve lokalizasyonu açısından önemlidir. Burası, VPL, VPM ve posterior talamik nukleustan uyarılar alır. Buradan çıkan efferentler tekrar talamusa gider ve inisiyellerle etkileşir. Limbik sistem somatosensoryal korteksten bilgi alır. Frontal lob ise talamus ve limbik sistemden uyarı alır ve ağrıya davranışsal cevabın oluşmasına neden olur (Jay, 2007).

2.6. Ağrı Algılanmasında İnisiyellerin Düzenleyici Rolü

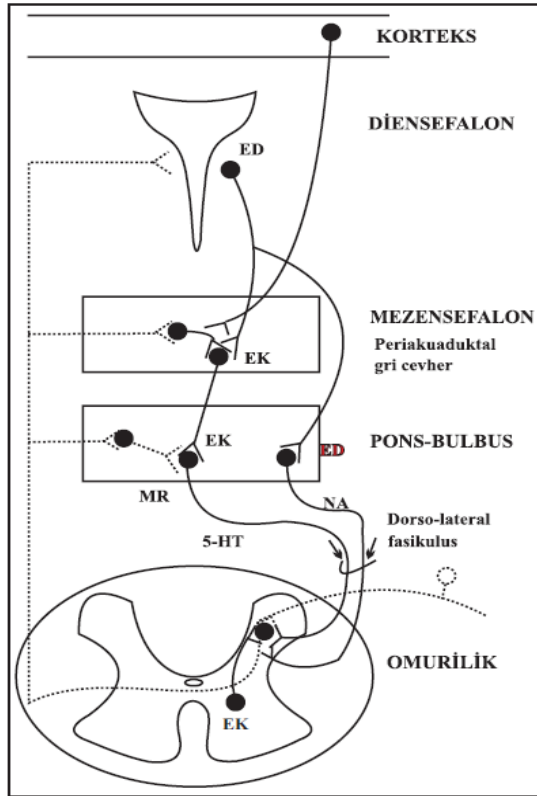
Santral sinir sistemine ağrı bilgisinin nosiseptif çıkan yollarla iletilmesinden sonra inisiyeller bu bilginin düzenlenmesinde ve/veya inhibisyonunda görev alırlar (Şekil 2.4) (Jay, 2007). Beyindeki, bu intrinsek modülasyonda görev alan birçok merkez vardır (Aşık, 2012). İnisiyeller modülatör sistem temel olarak dört bölümden oluşur:

- ❖ Kortikal ve talamik yapılar,
- ❖ Orta beyin periakvaduktal gri cevher,
- ❖ Rostral medulla ve pons (rafe magnus),
- ❖ Meduller ve spinal kord dorsal boynuz (Lamont vd., 2000; Jay, 2007; Aşık, 2012).

Sinir lifleri, bu yapılardan spinal kordda dorsolateral funikulus yoluyla iner. Desendan analjezik sistem, dorsal boynuz seviyesinde ağrılı uyarıya geçişine direkt etkilidir.

Rostral ventromedial medulla (RVM) inisiyellerin en önemli yerlerindedir (Brenner ve Woolf, 2008). Burada, nosiseptif bilginin kontrolünde yer alan nöronlar bulunur. Buradaki açık hücreler, dorsal boynuzda nosisepsiyon iletimini artırırken kapalı

hücreler ağrı iletimini bloke ederler (Brenner ve Woolf, 2008; Aşık, 2012). Bu düzenlemenin gerçekleşmesinde bazı ilişkili sistemler de görev almaktadır. Bunlar; opioid, noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerdir (Brenner ve Woolf, 2008).



Şekil 2.4. Nosiseptif inisi sistemlerin şematik görünümü (Aydın, 2002).

2.6.1. Opiyoderjik sistem

Opioid sistem beyin, beyin sapı, spinal kord ve primer afferent nöronların periferik sonlanmaları da dahil birçok yerde etkilidir. Endojen opioidler β -endorfin, enkefalinler ve dinorfinlerdir. Bunlar sinaptik transmisyonu G protein aracılığı ile inhibe ederler (Jay, 2007; Brenner ve Woolf, 2008). Genellikle dinorfin ve enkefalin kaudat nukleus, amigdala, PAG, locus coeruleus ve spinal kord gibi yerlerde beraber etkilidirler. Dinorfin göreceli olarak daha zayıf analjeziktir (Jay, 2007). β -endorfin endojen analjeziden sorumludur.

Presinaptik ve postsinaptik etkileri olan opioid reseptörleri üç çeşittir: Mu (μ), delta (δ) ve kappa (κ). Klinikte kullanılan çoğu opioid madde μ reseptörleri üzerinden etkilidir. κ reseptörleri ağırlıklı olarak spinal kordda bulunur. δ reseptörleri ise çoğunlukla supraspinal seviyelerdedir (Jay, 2007).

Opioidler spinal kordda, primer afferentlerden sinaptik veziküllerin salınımını engelleyerek etki ederler (Brenner ve Woolf, 2008).

2.6.2. Noradrenerjik sistem

Spinal kordda norepinefrinin primer reseptörü α_2 adrenerjik reseptördür. Bunlar da opioid reseptörleri gibi G proteini kenetlidirler. Presinaptik vezikül salınımını ve postsinaptik nöronların hiperpolarizasyonunu engellerler. α_2 adrenerjik reseptör agonisti olan klonidinin analjezik etkisi vardır (Brenner ve Woolf, 2008).

2.6.3. Serotonerjik sistem

Rostral ventromedial medulladan çıkan serotonerjik inisiyasyon, dorsal boynuz nosiseptif fonksiyon üzerinde inhibitör etki oluşturur. Spinal kordda çeşitli 5-HT alttipi bulunmaktadır. 5-HT, aktive olan reseptör alttipine göre antinosiseptif veya pronosiseptif etki gösterebilir. İnisiyasyon 5-HT inhibisyonu, metabotropik 5-HT reseptörleri ile sağlanan transmitter salınımını azaltarak etki eden presinaptik bir inhibisyonudur (Brenner ve Woolf, 2008).

2.7. Tramadol

Tramadol hidroklorür santral etkili, sentetik bir analjeziktir. Analjezik sınıflamasında zayıf opioid grubunda yer alır. Yapılan çalışmalar, tramadolün zayıf μ -opioid reseptör agonistik etkisinin yanında NA ve 5-HT presinaptik geri alınımını inhibe etmekte ve 5-HT salınımını stimüle etmekte olduğunu göstermiştir (Keskinbora ve Aydın, 2006). Bu etkiler sinerjistik ve birbirini tamamlayıcı özelliktedir (Kayhan, 2004).

Tramadol her biri farklı mekanizmaya sahip iki enantiyomerden oluşan bir rasemik karışımdır: (+) tramadol ve (-) tramadol. (+) tramadol ve metaboliti olan O-desmetiltramadol (M_1) opioid agonist etki ve 5-HT geri alımını inhibisyonuna neden olur.

(-) tramadol ise NA geri alımın inhibisyonuna yol açar (Raffa vd., 1993; Ateş vd., 2010).

Tramadolün μ -opioid reseptör afinitesi morfinden 6000 kez daha azdır (Raffa vd., 1992). Tramadol, opioid analjezik etkinliğini esas olarak aktif metaboliti olan M₁ ile sağlar ve metabolitin μ -opioid reseptör afinitesi ana molekülden 20 kat daha fazladır (Keskinbora ve Aydınli, 2006). Analjezik etkisi morfinin onda biri kadardır. Diğer opiyatlara göre solunum depresyonu, konstipasyon, bulantı, kusma gibi yan etkilerinin daha az olması nedeniyle klinikte sıkça kullanılmaktadır.

Tramadolün oral alımdan sonra, karaciğer ilk geçiş etkisi nedeniyle biyoyararlanımı %65-70'lere düşer (Ardakani ve Rouini, 2009). Plazmada 15-45 dakika sonra belirmeye başlar ve plazma pik konsantrasyonuna 2-4 saatte ulaşır. Doku afinitesi yüksektir (Duthie, 1998). Özellikle akciğerler, dalak, karaciğer, böbrekler ve beyin olmak üzere vücut dağılım hacmi yüksektir. Plazma proteinlerine %20 oranında bağlanırlar (Bamigbade ve Langford, 1998).

Tramadol karaciğerde sitokrom P450 (CYP450) sistemi tarafından demetilasyon ve konjugasyon yoluyla metabolize edilir. Tramadolün, 11 metaboliti olmasına rağmen sadece M1 metaboliti aktiftir. M1 metabolitinin oluşumu için CYP450 sistemi izoenzimi olan spartein oksijenaz (CYP2D6) enzimine ihtiyaç vardır (Keskinbora ve Aydınli, 2006; Kaya, 2010). Bu izoenzim genetik polimorfizm gösterebilir. CYP450-2D6 enzimatik aktivitesi düşük olan insanlarda M1 metaboliti oluşturulamadığı için tramadolün analjezik etkinliği de azalır (Raffa, 2008).

Tramadolün %30'u değişmeden olmak üzere yaklaşık %90'ı böbreklerden atılır. Karaciğer sirozu ya da renal yetersizlik varsa dozu yarıya indirip doz aralığını arttırmak gereklidir çünkü ana bileşiğin M1 metabolitinin eliminasyonu azalır (Raffa, 2008).

2.8. Siproheptadin

Siproheptadin, birinci jenerasyon histamin 1 (H₁) reseptör blokajı yanında non spesifik 5-HT_{1a} ve 5-HT₂ reseptör blokajı da yapan bir ajandır (Graudins vd., 1998). Molekül ağırlığı 287,39 g/mol olup, geniş bir dağılım hacmine sahiptir. Yarılanma ömrü

oral alımdan sonra 6-8 saat olup karaciğer tarafından metabolize edilir (Hargrove ve Molina, 2009).

2.9. Nalokson

Kompetatif opioid reseptör antagonisti olan naloksonun opioid reseptörlerine affinitesi diğer opioidlere göre daha fazladır. Opioid maddelerle oluşan agonistik aktiviteyi yarışmalı antagonizma ile geri çevirir. Özellikle opioidlerin yüksek dozları nedeniyle meydana gelen solunum depresyonunu büyük oranda geri çevirir. Opioid etkinin geri döndürülmesi ile ağrının tekrar hissedilmesi, algılanması, sempatik uyarı artışı, çekilme sendromu veya kusma meydana gelebilir (Morgan vd., 2008b).

2.10. İnflamasyon Tanımı ve Sınıflandırılması

İnflamasyon; mikroorganizmaların veya toksinlerin hücrelere zarar vermesinin önlenmesi ya da hasar sonucu oluşan nekrotik dokuların uzaklaştırılmasına yönelik, organizmanın devamlılığı için geliştirilmiş koruyucu bir yanıttır (Ferrero-Miliani vd., 2007).

İnflamasyon kan damarları ve lökositlerin önemli rol oynadığı karmaşık bir olaydır. İnflamasyonun vasküler ve hücrel reaksiyonları, çeşitli hücreler tarafından üretilen veya bazı plazma proteinlerinden kaynaklanan mediyatörler tarafından başlatılmaktadır. Mikroorganizma, toksinler, nekrotik hücreler, mekanik ve kimyasal ajanlar ve hatta hipoksik durum bile inflamatuvar mediyatörlerin salınıp inflamasyonun başlamasına sebep olabilir (Goldman ve Schafer, 2012). Normal şartlar altında yanıtın sıkı kontrol edilmesi daha fazla hasar oluşmasını önler ve hasarlı dokular temizlenirken, hastalık durumlarında oluşan patolojik inflamasyon ekstraselüler matriks harabiyetine ve organ disfonksiyonuna neden olmaktadır.

İnflamasyon; uyarının özelliğine, ilk uyarıyı elimine etme konusunda oluşturulan yanıtın yeterliliğine ve oluşan doku hasarına bağlı olarak akut ve kronik olabilir.

2.10.1. Akut inflamasyon

Akut inflamasyon konağın ani yanıtı ile ortaya çıkar, enfeksiyon ya da zedelenme bölgesine lökosit ve plazma proteinlerin hızlı ulaşması ile karakterizedir. Akut inflamasyonun üç önemli bileşeni vardır:

- ❖ Kan akımında artışa neden olan vasküler çap artışı
- ❖ Plazma proteinleri ve lökositlerin dolaşımı terk etmesine neden olan mikrovasküler alanda yapısal değişiklikler
- ❖ Lökositlerin mikrodolaşımı terk edip (diapedez) zedelenme bölgesinde toplanması ve ajanı yok etmek için aktive olmaları (Kumar vd., 2013).

Akut inflamasyon hızlı başlar, süresi kısadır (birkaç saat-birkaç gün), önemli özelliği ödem ve lökositlerden zengin doku infiltrasyonudur. Akut inflamasyonda ilgili ajan uzaklaştırılınca olay sona ererken yanıtın yeterli olmadığı durumlarda kronik faza ilerleyebilir (Kumar vd., 2013).

2.10.1.1. Vasküler değişiklikler

Zedelenmeden sonra hızla başlar. Arteriollerde önce geçici ve saniyeler süren bir daralma, sonrasında vazodilatasyon oluşur. Lokal kan akımı artışı, akut inflamasyonda karakteristik olarak görülen eritem (kızarıklık) ve ısı artışına neden olur. Daha sonra küçük damarlarda geçirgenlik (permeabilite) artışı ve damar dışı dokulara proteinden zengin sıvı eksüstasyonu olur. Buna bağlı hemokonsantrasyon, kan viskozitesinde artma ve dolaşımda yavaşlama olur. İçi eritrositlerle dolu çok sayıda geniş küçük damarlar olarak görülen bu yapı staz olarak adlandırılır (Güç, 1998). İnflamasyonun erken fazında, kan akımı artışına bağlı olarak damar içi hidrostatik basınç artar ve sıvının kapillerlerden filtrasyonuna neden olur. Önce, protein içeriği az olan transüda vasküldenki sıvı, kısa süre sonra da damar geçirgenliğinin artışına bağlı olarak proteinden zengin sıvı ile beraber hücreler interstisyuma geçmeye başlar. Böylece damar içi osmotik basınç azalırken, interstisyumda osmotik basınç artar. Bu olayın net sonucu ödem olarak adlandırılır (Cotran ve Briscoe, 1997; Güç, 1998; Cotran vd., 2000).

2.10.1.2. Lökositlerdeki hücresel olaylar

İnflamasyonda meydana gelen önemli olaylardan biri de, hasarlı alana doğru olan lökosit göçüdür. Lökositler yabancı mikroorganizmayı fagosite eder, bakterileri öldürür, nekrotik dokuyu ve yabancı antijenleri etkisiz hale getirir. Ancak, salgıladıkları enzimler, kimyasal mediyatörler ve toksik radikaller aracılığı ile doku hasarına ve inflamasyonun uzamasına da neden olabilirler. Lökosit hareketlerinin başında staz sırasında hücrelerin damar içinde periferik doğru yer değiştirmesi ilk adımı oluşturur. *Marginasyon* adı verilen bu olay sonrasında lökositler vasküler endotel ile karşı karşıya gelir. Lökositlerin damar periferinde yuvarlanmaları sırasında önce endotelle olan geçici yapışıklıklar (rolling) daha sonra ise sıkı yapışıklık yani adezyon süreci gerçekleşir. Lökositleri ilgilendiren bu olaylar dizisi gerçekleşirken eş zamanlı olarak mikrosirkülatuar sahadaki değişikliklere bağlı olarak permeabilite artışı olur ve lökositlerle birlikte proteinden zengin bir sıvı da interstisyel bölgeye sızar. *Eksudasyon* adı verilen bu olay inflamasyonun karakteristiğidir. *Marginasyon*, rolling ve adezyon hareketleri *Transmigrasyon* olarak adlandırılan, lökositlerin endoteli geçişi ile devam eder. Ardından bir kemotaktik stimulusu izleyerek zedelenen bölgeye gidiş hareketi (migrasyon) gerçekleşir (Cotran ve Briscoe, 1997; Güç, 1998; Cotran vd., 2000).

2.10.1.3. İnflamasyonun kimyasal mediyatörleri

❖ Vazoaktif aminler

Histamin özellikle mast hücrelerinden, daha az oranda da bazofiller ve trombositlerden salınır. Histamin fiziksel zedelenme, immün reaksiyonlar, kompleman parçacıkları (C3a,C5a) ve sitokinler gibi uyarılarla salınır. Arteriol dilatasyonu ve venüllerde permeabilite artışına yol açar (Moncada vd., 1973; Kayaalp ve Tuncer, 2005).

5-HT esansiyel bir amin oasit olan triptofandan sentezlenir (Tuncer, 2005). İntestinal mukozada bulunan enterokromafin hücrelerde lokalize olmuştur. 5-HT burada düz kasları uyararak gastrointestinal motiliteyi artırır. Kandaki tüm 5-HT trombositlerde depolanır. Trombosit agregasyonu ile salınımı uyarılır. 5-HT'in lokal enjeksiyonu o bölgede inflamasyona yol açar (Tuncer, 2005; Maleki vd., 2005).

❖ Plazma proteazları

• Kompleman sistemi

Kompleman sistemi ayrışma ürünleri ile birlikte 20 protein komponentinden oluşur. C1'den C9'a kadar sıralanan komponentler normal şartlarda plazmada inaktif halde bulunurlar. Aktivasyonları klasik ve alternatif olmak üzere iki yol üzerinden gerçekleşir. C3'ün ayrışması en kritik aşama olup, her iki yol da bu noktadan sonra ortak aktivasyon şekli izler. Antijen-antikor kompleksleri klasik yolu, mikrobiyal yüzeyler ve polisakkaridler ise alternatif yolu aktive ederler. Bu komponentler içinde bazıları diğerlerine göre daha sık olarak inflamasyon süreci içinde yer alır ve iyi tanınırlar. Bunlardan, C3a ve C5a (anaflatoksinler olarak da bilinirler) histamin aracılığı ile vasküler permeabilityyi artırır, vazodilatasyona neden olurlar. C5a, aynı zamanda nötrofil ve diğer hücreler için oldukça kuvvetli kemotaktik ajan olup, lökositlerin endotele adezyonunda görev alır. C3b ve C3b ise opsonin olarak bilinir ve fagositozu kolaylaştırır (Tuncer, 2005; Burke vd., 2006).

• Pıhtılaşma sistemi

Hageman faktörünün aktivasyonu sonrası ortaya çıkan bir dizi plazma proteininin oluşur. Ayrışma sürecinin sonunda fibrinojenden fibrin oluşur, bu sırada fibrinopeptidler de ortaya çıkar. Fibrinopeptidler vasküler permeabilityyi artırır ve lökositler için kemotaktiktirler. Fibronolitik sistemin çalışması sonrasında plazmin aracılığı ile oluşan fibrin yıkım ürünleri de permeabilityyi artırıcı etkiye sahiptir (Guyton ve Hall, 1996).

• Kinin sistemi

Hageman faktörünün aktivasyonu ile tetiklenen bir sistemdir. Kinin sisteminin en iyi bilinen mediyatörü bradikinin'dir. Bu mediyatör vasküler permeabilityyi artırır, damar dışı düz kas kontraksiyonu yapar, kan damarlarını dilate eder ve inflamasyonda ağrı duyusundan sorumludur (Sharma ve Buchanan, 1994). Ayrıca deriye enjekte edildiğinde ağrı oluşturur (Dray ve Perkins, 1993). Bradikininin etkisi kısa sürelidir; çünkü plazma ve dokularda bulunan kininazlarla hızlı bir şekilde parçalanır. Bradikininler, substans P ve prostanooidler ağrı yollarını uyararak inflamasyonun *dolor*'unu oluştururlar

(Hall, 1992; Sharma, 1994). Kininler etkilerini B1 ve B2 olarak adlandırılan iki tip reseptörle oluştururlar (Hall, 1992; Sharma, 1994). B1 reseptörleri doku hasarı ve inflamasyon gibi patolojik durumlarda indüklenirken, normal dokularda bulunmaz (Dray ve Perkins, 1993). B2 reseptörleri afferent sinir uçlarında ve santral sinir sisteminde bulunur, ağrı reseptörlerinin duyarlılığını artırır (Dray ve Perkins, 1993; Ferreira vd., 1993).

- **Substans P**

Substans P santral sinir sisteminde yaygın olarak bulunur. Substans P'nin periferden gelen ve nosiseptif uyarıları santral sinir sistemine taşıyan primer duyuşal nöronlarda, omuriliğın arka boynuzunda ve duyuşal trigeminus çekirdeğindeki akson uçlarında glutamat ile birlikte bulunduğu gösterilmiştir. Substans P santral sinir sisteminde ağrının birinci nörondan ikinci nörona taşınmasında rol oynar. Yapılan birçok deneysel çalışma substans P'nin inflamatuvar cevaba katkısı olduğunu desteklemektedir (Bileviciute vd., 1993). Lewis'in üçlü cevabında vazodilatasyon yapması ve ayrıca karragenanla oluşturulan inflamasyon modelinde (sıçan pençesinde yapılan ölçümlerde 15. dakika ve sonrasında) substans P'nin artması bu kanıtı desteklemektedir (Ogonowski vd., 1997).

- ❖ **Araşidonik asit metabolitleri**

Araşidonik asit (AA) hücre membran fosfolipidlerinden sentezlenir. Hücreşel fosfolipaz aktivasyonuşla membran fosfolipitlerinden ortaya çıkar (Garcia-Pastor vd., 1999). Hücreşel fosfolipazlar mekanik, kimyasal, fiziksel uyarı veya C5a gibi iltihabi mediyatörlerce aktive edilirler.

AA metabolizması iki major yoldan biri şekilde ilerler. Farklı yolaklardan COX ürünleri ve 5-LO ürünleri oluşur (Suleyman vd., 2007).

- **Siklooksigenaz (COX) ürünleri**

Burada prostaglandin E₂ (PGE₂), PGD₂, PGF_{2 α} , PGI ve tromboksan A₂ (TXA₂) bulunur. AA, COX enzimi ile siklik endoperoksitlere (PGG₂, PGH₂) dönüşür (Griswold ve Adams, 1997). PGD, PGE ve PGF'lere primer PG'ler adı

verilir (Griswold ve Adams, 1997). Primer PG'ler inflamasyonda anahtar mediyatör olarak rol oynarlar. Yapılan çalışmalarda COX'ın iki formu (COX-1 ve COX-2) olduğu gösterilmiştir (Vane ve Botting, 1997). COX-1 ile COX-2 arasındaki en önemli fark COX-1'in esas olarak yapısal, COX-2'nin ise indüklenebilir olmasıdır (Fung ve Kirschenbaum, 1999). COX-1 ayrıca damar endotelinde, trombositlerde, böbrek glomerül ve tubülüs hücrelerinde ve vezikula seminaliste fazla miktarda bulunur. COX-2'nin başta endotoksinler, interlökin (IL)-1 α , IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)- α olmak üzere inflamasyona neden olan değişik faktörlerce (bazı büyüme faktörleri, trombosit aktive edici faktör, endotelin, koryonik gonadotropin, 5-HT ve ayrıca mekanik bir uyarı olan sürtünme stresi) indüklenir. Bu nedenle COX-2 aktivitesinin artması, inflamasyon gibi patolojik olaylardan sorumlu olan PG sentezini artırmaktadır (Steinmeyer, 2000). COX enzimi ürünleri olan PG'lerin değişik etkileri bulunmaktadır. PGE₁'in intradermal enjeksiyonu eritem ve hiperaljezi oluşturur. PGE₂ ise hiperaljezi oluşturur. Çok düşük dozlarda bile olsa karragenan, histamin ve bradikinin ile oluşan ödematöz cevabı potansiyelize eder. Karragenan, düşük dozlarda diğer inflamasyon mediyatörlerinin etkilerini arttırırken, yüksek dozlarda direkt inflamatuvar etki oluşturur. PGG₂'nin etkileri PGE₂'ye benzemektedir (Steinmeyer, 2000).

- **Lipooksigenaz (5-LO) ürünleri**

5-LO nötrofillerde baskın olarak bulunan ve AA'den LT'lerin oluşumunu sağlayan bir enzimdir. LT'lerden LTB₄ kemotaksid görev alır. LTC₄, LTD₄, LTE₄ ise vazokonstriksiyon, bronkospazm ve permeabilite artışına yol açarlar. Bu mediyatörlerin rol aldığı en klasik hastalık örneği bronşiyal astımdır (Bhattacharjee vd., 1981; Malmsten, 1986). Özet olarak; ağrı ve ateş mekanizması da dahil olmak üzere eikosanoidler akut inflamasyonun her aşamasında yer alırlar.

- ❖ **Trombosit aktive edici faktör**

Trombosit aktive edici faktör (PAF), fosfolipid kökenli bir mediyatördür. Mast hücresi ve bazofil başta olmak üzere birçok hücreden salgınır. Vasküler permeabiliteyi

artırır, lökosit agregasyonu, adezyonu ve kemotaksisini sağlar. Trombositleri aktive eder ve eikosanoidler başta olmak üzere diğer bazı mediyatörlerin sentezini de uyarır (Montrucchio vd., 2000; Honda vd., 2002).

2.10.1.4. İnflamatuvar yanıtın başlaması ve inflamazom

Normal bir doku patojenle karşılaştığı zaman buradaki yerleşik hücrelerin biçim tanıma reseptörleri patojen ajanla bağlanması sonucu aktive olarak doğal immun yanıtı harekete geçirir. Doğal immun sistemin hücreleri konak savunmasında erken dönemdeki olayları düzenlemenin yanı sıra, dentritik hücreler aracılığı ile adaptif immun sistemini de devreye sokarlar (Abbas ve Lichtman, 2009).

Tehlike sinyallerini ve potansiyel patojenleri algılayan reseptörler hücrenin sitoplazmasında bulunur. Bunlar içinde inflamazomlar en iyi tanımlanan sistemlerden birisidir ve insan NOD-benzeri reseptör (NLR) ailesinin 22 üyesini içerir. Aktive olan NLR proteinleri diğer proteinleri de bu bölgeye toplayarak Kaspaz-1 ve adaptör molekül apoptosis ilişkili specklike protein (ASC) ile bir kompleks oluşturur. Kaspaz-1'in aktive olması inflamazomların en önemli fonksiyonlarından birisidir ve IL-1, IL-18 ve IL-33'ün klevajı ve aktivasyonu ile sonuçlanır (Martinon vd., 2009).

Doku hasarını takiben oluşan inflamatuvar yanıt ile mikrovasküler hasar, lökosit ekstrasvazasyonu oluşur ve plazma ve proteinleri dokuya sızar. Bazı durumlarda inflamazom bunu algılayarak olayı başlatma rolü oynarken; iskemi gibi durumlarda, asit sensitif iyon kanalları doku pH'sının azalmasını algılayarak çevresel tehlikeyi tespit eder. Vasküler hasar alanındaki trombüs formasyonu, vazoaktif aminler (5-HT), lizozomal proteazlar ve eikosanoid ürünlerinin oluşumu inflamatuvar kaskadı başlatır. Trombositler daha sonra da trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve transforme edici büyüme faktörü (TGF)- β gibi büyüme faktörlerinin salınması ile iyileşme sürecini de regüle etmektedir (Barrientos vd., 2008).

2.10.1.5. İnflamatuvar yanıtın ikinci aşaması

Doğal immun sistemin aktivasyonu bu bölgeye hızla inflamatuvar hücrelerin gelmesini sağlar. Vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri, dendritik hücreler ve

interstisyel fibroblastlar gibi yerleşik hücreler, eikosanoitler ve proinflatuvar sitokinlerin salınımı ile bu olaya yanıt verirler (Abbas ve Lichtman, 2009). Bu mediyatörler inflamatuvar yanıtı arttırarak daha fazla lökositin bu bölgeye gelmesini sağlarlar. Lokal olarak uyarılan hücreler ve yeni gelenler, toksik reaktif azot ve oksijen ara ürünleri ile matriks metalloproteinaz (MMP)'lar, serin ve sistein proteazlar gibi çeşitli proteazların salınmasına neden olurlar. Bu moleküller enfeksiyon ajanlarını yok eder ve zedelenen dokuların uzaklaştırılmasını sağlayarak zedelenme bölgesini tamir için temizlerler. Akut inflamatuvar mekanizmaların uyarılmasının uzaması ciddi doku hasarına neden olur. Normal fizyolojik yanıt ise doku hasarından ziyade, proteolitik enzimlerle ekstraselüler matriksin (ECM) yeniden şekillenmesi ve yara iyileşmesi için gerekli destek dokuların oluşmasını sağlar (Goldman ve Schafer, 2012; Kumar vd., 2013).

2.10.1.6. Doku tamiri ve inflamasyonun gerilemesi

İnflamasyon normal bir fizyolojik yanıttır ama devam etmesine izin verilmesi halinde dokularda ciddi zedelenmelere neden olabilir. Bu nedenle inflamatuvar yanıt başlarken dengenin sağlanması için ilave mekanizmalar da devreye girmektedir. Mediyatörler ve efektör hücrelerin kaldırılması veya devre dışı bırakılması ile akut inflamasyonun baskılanması konağa uygun büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınarak hasarlı dokuların tamir edilmesine izin verir. Bir inflamatuvar yanıtın ilk başlangıcında rezolüsyon bileşenleri hücresel yanıt (apoptoz ve nekroz), soluble mediyatörler (örneğin, antiinflamatuvar sitokinler ve antioksidanlar gibi) ve direkt efektörlerden (örneğin, proteaz inhibitörleri gibi) oluşur (Goldman ve Schafer, 2012).

2.10.1.7. İnflamatuvar hücrelerin ortamdan uzaklaştırılması

İnflamasyon bölgesindeki hücreler farklı mekanizmalarla buradan uzaklaştırılırlar (Serhan, 2008). Bunlar;

- ❖ Hücre akışı kemotaktik faktör üretimi ve vasküler adezyon molekül ekspresyonunun baskılanması ile azaltılır.
- ❖ Hücreler, özellikle lenfositler, dokudan ayrılarak lenfatikler aracılığı ile dolaşıma karışırlar.
- ❖ Stres altındaki hücreler içeriklerini lokal çevreye salarak nekroza giderler.

- ❖ İnflamasyon alanından hücrelerin temizlenmesindeki en önemli mekanizma apoptozistir (Goldman ve Schafer, 2012).

Apoptozis, ökaryotik hücrelerde hücre ölümüne yol açan ve fagositler tarafından hızlı bir şekilde uzaklaştırılması için yüzey membranı işaretleyen, oldukça düzenli bir süreçtir. Bu temizleme süreci, nekroz ile hücre ölümünün aksine, inflamatuvar yanıt oluşturmaz (Wei vd., 2013). Polimononükleer fagositlerin (PMN) dokudaki ömürleri çok kısadır ve ölümünden sonra bu bölgede kalmaları ya da içeriklerinin mikroçevreye salınması zararlı olabilir. Lökositoklastik vaskülit gibi bazı patolojik durumlarda, bol nötrofil apoptozu histopatolojik incelemede kolayca görünür ve tanı için gerekli patolojik kriterlerden biridir. T lenfositler gibi diğer hücreler, konağa zarar vermemek için aktivasyon sonrası apoptoza giderler. Defektif apoptozis veya apoptotik hücrelerin sebat etmesi bile kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklara katkıda bulunabilir (Goldman ve Schafer, 2012).

Hücre apoptozu hücreSEL mikroçevrede reaktif oksijen ara ürünleri (ROS)'nin yanı sıra FasL/Fas ve TNF-ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL) gibi çok sayıda ölüm reseptör yolları aracılığıyla başlatılabilir. İnflamatuvar süreçte yaygın olarak üretilen bir ara ürün olan ROS DNA'ı hasarlayabilir. Eğer DNA hasarı fazla ise, sıkı regüle edilen tamir mekanizmaları tarafından tamir sonlandırılır ve programlanmış hücre ölümü başlar. Kronik inflamasyonda ROS veya reaktif nitrojen ara ürünleri (RNS) ile indüklenen mutasyon yükü zaman içinde birikir ve sonuçta önemli düzenleyici proteinlerde amino asit değişimlerine yol açabilir ve ülseratif kolitte gözlemlendiği gibi neoplastik hastalık gelişebilir. Apoptotik hücrelerin ya da apoptotik hücre artıklarının uzaklaştırılması çok hızlıdır ve makrofajlar, fibroblastlar, epitelyal ve endotelyal hücreler, kas hücreleri ve dendritik hücreler tarafından sağlanır. Apoptotik hücrelerin tanınmasında ve bunların çevrelenmesinde kullanılan yüzey reseptörleri integrinler (örneğin $\alpha\beta3$), lektinler, çöpçü reseptörler, adenosin trifosfat (ATP)-bağlayan kaset taşıyıcı 1, LPS reseptörü, CD14 ve kompleman reseptörü CR3 ve CR4'dür (Blank ve Shiloh, 2007; Serhan, 2008; Wei vd., 2013). Bununla birlikte, bu membran moleküllerinin bazıları hem proinflamatuvar hem de apoptotik yollarda kullanılabilir, bu ayrım farklı ligandlar ve aksesuar moleküller aracılığı ile sağlanmaktadır. Apoptotik hücreler, fagositler üzerindeki reseptörler ile

etkileşime giren bir dizi membran ilişkili moleküler paternler sergilerler. Apoptotik hücreler ve fagositler arasındaki etkileşimin ayrıntıları, kısmen anlaşılmıştır. Apoptotik hücrelerin genel bir özelliği fosfatidilserinin dış presentasyonu ile fosfolipid asimetrisininin kaybıdır. Dışsallaşmış fosfatidilserin fagositozu tetiklemek için yeterli olabilir, ancak diğer apoptotik hücre yüzey yapıları da bulunmaktadır (Blank ve Shiloh, 2007; Serhan, 2008; Wei vd., 2013).

2.10.2. Kronik inflamasyon

Kronik inflamasyon akut inflamasyonu takip edebilir ya da sinsice başlayabilir. Süresi daha uzundur, dokularda lenfosit ve makrofaj hakimiyeti, vasküler proliferasyon, fibrozis ve doku yıkımı ile karakterizedir (Kumar vd., 2013).

2.10.3. Sitokinler

Sitokinler, etki mekanizmalarına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler immün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler, inflamasyonun başlangıcında salınırlar. Antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha ileriki safhalarında salgılanırlar ve inflamatuvar yanıtın kontrolünden sorumludurlar. Proinflamatuvar sitokinler; TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, interferon (IFN)- γ , antiinflamatuvar sitokinler; IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, çift etkili sitokinler ise IL-6, TGF- β olarak sınıflandırılabilir (Casey, 2003).

2.10.3.1. Proinflamatuvar sitokinler

Genellikle makrofaj ve fibroblastlardan köken alan proinflamatuvar sitokinler, immün sistemi aktive eden mediyatörlerdir. IL-1 ailesinin proinflamatuvar üyeleri (IL- α , IL-1 β , IL-18 ve IL-33) ve TNF'nin farklı yönde etkileri vardır. Endotelial hücrelerde adezyon molekül ekspresyonunu artırıp proliferasyonunu indükler ve antijen sunumunu uyarırlar. IL-1 ve TNF aynı zamanda matriks yıkımını sağlayan kollajenaz ve stromelisin gibi enzimlerin ekspresyonunu artırır ve fibroblastlardan PGE₂ gibi diğer inflamatuvar mediyatörlerin sentezini uyarır. TNF inhibitörleri psoriasis, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi inflamatuvar hastalıklarda, IL-1 inhibitörleri de ailesel soğuk otoiinflamatuvar hastalık ve Muckle-Wells sendromu gibi genetik hastalıklarda etkili tedavi

yöntemleridir. IL-1 ve TNF akut sitokin yanıtının sadece küçük bir kısmını oluşturur. Hem akut faz reaktanlarını indükleyen hem de Th1 veya Th2 yönünde immun yanıtı farklılaştıran IL-6 ve ilgili sitokinler (IL-11, osteopontin) gibi farklı diğer faktörler de olaya katılmaktadır (Goldman ve Schafer, 2012; Keating vd., 2012).

Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) dentritik hücre maturasyonunu regüle eder, bu hücreler üzerinde HLA-DR ekspresyonunu ve antijen sunumunu artırır. Th1 lenfokin olan IFN- γ , HLA-DR ekspresyonunu ve endotel hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırırken kollajen üretimini baskılar (Goldman ve Schafer, 2012). IL-1, IL-6 ve IL-23; ürettiği IL-17 ailesinin ürünleri sayesinde (IL-17 A-F) inflamasyon ve otoimmunitede Th17 yönündeki farklılaşmayı koordine eder. Bunlar arasında özellikle IL-17A ve belki de IL-17F, IL-1 ve TNF ile gösterdikleri sinerji nedeni ile önemlidir (Mills vd., 2013). Büyüme faktörü olan TGF- β , hücreleri regülatör T hücre yönünde farklılaştırır, bu da diğer T hücrelerinin antijen spesifik yanıtını baskılar (Hassoun vd., 2009). Sitokinler birçok inflamatuvar hastalığın başlamasında ve devamında önemli rol oynamaktadır (Ariza vd., 2013).

2.10.3.2. Antiinflamatuvar sitokinler

Antiinflamatuvar sitokinler inflamasyon bölgesine gelen ya da burada zaten var olan hücreler tarafından salınır. Örneğin TGF- β ve IL-10 makrofajlar, interstisyel fibroblastlar veya T-hücreleri tarafından üretilir. IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi bazı T-hücre sitokinleri, IL-1 veya TNF ile uyarılmış hücrelerden, MMP ekspresyonunu baskırlar. TGF- β , fibroblast proliferasyonuna ek olarak, kollajenaz üretimini baskılar, kollajen depolanmasını artırır ve MMP'ların doku inhibitörlerinin (TIMP) üretimini uyararak MMP aktivitesini azaltır. Fibrozisin önemli bir bulgu olduğu hastalıklarda tamir fazı anormaldir. Örneğin, skleroderma diffüz fibrozis ile seyrederek ve artmış ECM ve yüksek TGF- β seviyeleri ile birliktedir (Lee ve Kaluri, 2010; Wang vd., 2011).

2.10.4. İndometazin

Romatoid artrit, gut, ankilozan spondilit ve reaktif artritler gibi inflamatuvar romatizmal hastalıklar yanında PG sentezi üzerine olan güçlü baskılayıcı etkisi nedeniyle perikardit, prematür eylem ve infantlarda patent duktus arteriyozus tedavisinde kullanılır.

İndometazin, kırkırdak yıkımını arttırdığını bildiren çalışmalar nedeni ile osteoartritte önerilen bir non-steroidal antiinflamatuvar ilaç değildir. En önemli yan etkileri gastrointestinal sistem ve santral sinir sisteminde (baş ağrısı, baş dönmesi, vertigo) gözlenir (Koçar vd., 1997; Gökalp ve Mollaoğlu 2003).

2.11. *Verbascum* L. Genusu

Verbascum L. genusu (Scrophulariaceae) Türkiye bitki örtüsünde 196'sı endemik olmak üzere 246 tür ile temsil edilmektedir (Huber-Morath, 1978; Davis, 1988; Vural and Aydogdu, 1993; Karaveliogullari et al., 2004, 2006, 2009, 2011; Karaveliogullari and Aytac, 2008; Dane and Yilmaz, 2005; Ozhatay et al., 1996; Sutory, 2001, 2004; Kaynak et al., 2006; Parolly and Tan, 2007; Parolly and Eren, 2008; Yilmaz and Dane, 2008; Karaveliogullari, 2009; Bani et al., 2010; Aytac and Duman, 2012; Cecen et al., 2015; Firat, 2015).

2.11.1. *Verbascum* L. türlerinin kullanılışları

Anadolu'da, *Verbascum phlomoides*, *V. densiflorum* ve *V. thapsus* bitkilerinin çiçekli kısımları balgam söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır. *V. sinuatum* L. bitkisinin tohumları taşıdıkları saponinden dolayı, balıklar için zehirlidir. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nde bazı *Verbascum* türleri "Balıkotu" adı ile tanınır ve meyvalı dallarının göl ve dere sularına atılarak balıkların öldürülüp yakalanmasında kullanıldığı görülmektedir. Bazı *Verbascum* türlerinin yaprakları infüzyon halinde terletici, balgam söktürücü, yatıştırıcı, idrar artırıcı ve kabız önleyici olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999).

V. chrysochaete Stapf. türünün toprak üstü kısımları egzema, romatizma, hemoroid ve menstrual ağrılarda, *V. cheiranthifolium* Boiss. var. *cheiranthifolium* Boiss. türünün toprak üstü kısımları ve kökleri, *V. lasianthum* türünün ise yaprak ve çiçekli kısımları hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır (Tuzlaci ve Erol, 1999). Buna ek olarak, *V. symes* Murb. et Rech fil. türünün yaprak ve çiçekli kısımları dahilen ve haricen hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır (Gürhan ve Ezer, 2004).

Orta Anadolu'da halk arasında, *V. pumilum* Boiss. & Heldr. türünün toprak üstü ve kök kısımları yara iyileştirici, karın içi ağrıları ve hemoroid tedavisinde, *V. orientale* (L.) All. türünün çiçekli kısımları ise ürogenital organlarda terlemeyi önleyici olarak kullanılmaktadır (Sezik vd., 2001).

Verbascum genusu içerisinde "Mullein" adı ile bilinen ve en tanınmış tür olan *V. thapsus* tıbbi bir bitki olarak değişik farmasötik formlarda inflamatuvar hastalıklarının, astım, spazmodik öksürük ve diğer pulmoner problemlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkiden hazırlanan ekstrelerde antibakteriyal ve antitümör aktivite gözlenmiştir (Turker vd., 2004).

Türkiye bitki örtüsünde doğal olarak yetişen *V. mucronatum* türü Anadolu'da halk arasında kan dindirici olarak kullanılmaktadır (Akdemir vd., 2011).

Anadolu'da halk arasında infüzyon şeklinde hazırlanan *V. macrurum* Ten. türünün çiçekli kısımları ve *V. stenostachyum* Hub.-Mor türünün hem infüzyon şeklinde hazırlanan hem de çiğ olarak tüketilen çiçekli kısımları diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Arıtuluk ve Ezer, 2012).

2.11.2. *Verbascum* L. türlerinin biyolojik aktivite çalışmaları

2.11.2.1. Antiviral aktiviteleri

V. thapsiforme Schrad. türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan liyofilize edilmiş infüzyonu Fowl plague virüs, birkaç influenza A, influenza B ve *Herpes simplex virüs*'lerine karşı *in vitro* açıdan antiviral aktivitesi araştırılmıştır. *V. thapsiforme* ekstresi sadece *H. simplex* virüsüne karşı 300 µg/ml'de antiviral etki göstermiştir (Zgórniak-Nowosielska vd., 1991).

V. thapsus türünün metanol ekstresi, *H. simplex* virüs tip 1 ve influenza A virüsüne karşı *in vitro* test edildiğinde çok güçlü bir antiinfluenza aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Rajbhandari vd., 2009).

V. thapsus türünden hazırlanan metanol ekstresinin pseudorabies virüs RC/79'e karşı antiviral etkisi belirlenmiştir. Bitki ekstresinin CC₅₀ değeri nötral kırmızı (NRU) testinde 1100 µg/ml şeklinde belirlenmiştir. Esktrenin pseudorabies virüs RC/79'ün %50'sini inhibe eden konsantrasyon 35 µg/ml olarak bulunurken, bu değer NRU testinde 31,4 şeklinde belirlenmiştir. Hücreler, viral enfeksiyona karşı ekstre ile ön muameleye tabi tutulduğunda, inhibisyon değeri %70 şeklinde bulunmuştur. Pseudorabies virüsü bitki ekstresi ile beraber inkübasyona bırakıldığında oldukça yüksek bir inhibisyon görülmüştür (%99) (Escobar vd., 2012).

2.11.2.2. Antimikrobiyal ve antimalaryal aktiviteleri

V. undulatum Lam. türünün tohumlu kısımlarından izole edilen ve makrosiklik dimer bir lakton olan verbalakton antibakteriyel aktivitesi açısından araştırılmıştır (Magiatis vd., 2001).

V. macrurum türünün yapraklı kısımlarından diklorometan, etanol/su, su/metanol (70:30 v/v) şeklinde dört farklı fraksiyonu hazırlanmış ve her bir fraksiyonun antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, etanol/su fraksiyonunun bakterilere karşı en etkili fraksiyon olduğu gözlemlenmiştir (Guarino, 2002).

V. pterocalycinum var. *mutense* türünden elde edilen bileşiklerin antifungal aktivitesi, spor süspansiyonu püskürtülmüş İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) plaklarına direkt olarak bileşiklerin uygulanması ile verdikleri temiz inhibisyon zonlarına göre biyootografik metod ile değerlendirilmiş ve ilvensisaponin A ve C bileşiklerinin *Colletotrichum acutatum*, *C. fragariae* ve *C. gloeosporioides* gibi bitki funguslarına karşı etkili oldukları görülmüştür (Tatli vd., 2003).

V. leptostychem DC. türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteria*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Candida albicans*'a karşı, disk başına uygulanan 20 µl ekstre ile, %99,9 oranında organizmaları inhibe ederek etkili olduğu bulunmuştur (Barbour vd., 2004).

V. chionophyllum, *V. cilicicum* (Boiss. et Heldr.) O. Kuntze, *V. pterocalycinum* var. *mutense*, *V. pycnostachyum*, *V. splendidum* Boiss. türlerinin toprak üstü kısımlarının metanol ve etilasetat ekstreleri, 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plaka yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri *Candida albicans* ATCC 90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC 90113, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, metisilin rezistans *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Aspergillus fumigatus* ATCC 90906 ve *Mycobacterium intracellulare* ATCC 23068'a karşı; antimalaryal aktiviteleri ise *Plasmodium falciparum* klonuna karşı *in vitro* test edilmiş ve denenen ekstrelerin hiçbirinde önemli bir antimikrobiyal ve antimalaryal aktivite görülmemiştir (Akdemir vd., 2003). Ancak saf maddelerin etkilerini tek başlarına gösterebilecekleri de düşünülerek, *V. cilicicum*, *V. lasianthum* ve *V. pterocalycinum* var. *mutense* türlerinin metanol ekstrelerinden izole edilen sekonder metabolitlerin antimikrobiyal ve antimalaryal aktiviteleri, mikrodilüsyon metoduyla, aynı suşlar üzerinde çalışılmıştır. İlvensisaponin A ve C *Aspergillus fumigatus* ATCC 90906'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, diğer Gr (+), Gr (-) bakteriler ve mayalara karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir. Denenen diğer bileşiklerin ise önemli bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. *Plasmodium falciparum* klonuna karşı antimalaryal etkisi test edilen bileşiklerin hiçbiri antimalaryal aktivite göstermemiştir (Tatli ve Akdemir, 2005).

Geleneksel olarak cilt hastalıklarında kullanılan bitkilerden biri olan *V. sinaiticum* Benth. türünün, cilt hastalıklarına sebep olan Gr (+) (*Staphylococcus aureus*) ve iki Gr (-) (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) bakteriler ile *Candida albicans*, *Aspergillus niger* ve *Trichophyton mentagrophytes* gibi funguslara karşı disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş ve *S. aureus*, *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu bulunmuştur (Tadeg vd., 2005).

V. georgicum Bentham türünün metanol ekstresinin antimikrobiyal özelliği *in vitro* açıdan disk difüzyonu ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. *Candida albicans* izolatlarının hepsine ve *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. megaterium*, *B. lentimorbus*, *B. licheniformis*, *Pseudomonas putida*, *P. syringae*, *E. coli* türlerini içeren 10 farklı bakteri türünün 17 suşunda 37,5-300 µg/ml konsantrasyonlarda inhibisyon zonları oluşturduğu tespit edilmiş, ancak ekstre, test edilen

4 fungus türünün izolatlarına karşı hiçbir antifungal aktivite göstermemiştir (Engul vd., 2005).

V. sinuatum türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi ve bu ekstreden izole edilen bileşiklerin Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı antibakteriyel etkisi araştırılmış ve ekstre test edilen bütün bakteri suşlarına karşı inhibisyon göstermiştir. Genellikle Gr (+) bakterilerin ekstreye karşı daha hassas olduğu görülmüş ve bunlar arasında *S. epidermidis*'e karşı en düşük minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değeri 15,5 µg/ml şeklinde belirlenmiştir. Ekstre, Gr (-) bakterilere karşı ise daha az hassas bulunmuştur. Fraksiyonlama sonucu elde edilen bileşiklerden verbaskozit, sinuatol, ajugol, luteolin-7-*O*-β-glukozit ve okubin içinde, en yüksek antibakteriyel aktiviteyi verbaskozit gösterirken, luteolin-7-*O*-β-glukozit antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Ayrıca izole edilen bileşikler, 0,01-1 µg/ml konsantrasyonlarda, *Raphanus sativus* L. üzerindeki allelopatik aktiviteleri açısından da incelenmiştir. Sonuç olarak, okubin ve sinuatol saf olarak en düşük konsantrasyonda (0,01 µg/ml) inhibitör etkili bulunurken, ajugol ham ekstreyle birlikte uygulandığında sinerjik etki göstermiştir (Senatore vd., 2007).

V. bottae (Deflers) Hub.-Mor. türünün agar difüzyon metoduyla antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında Gr (+) bakteriler içerisinde özellikle multirezistant olanlara karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Mothana vd., 2008).

V. cariense Hub.-Mor., *V. adenophorum* Boiss., *V. inulifolium* Hub.-Mor., *V. vacillans* Murb., *V. chionophyllum*, *V. cilicium* Boiss., *V. trapifolium* (Stapf) Hub.-Mor., *V. meinckeanum* Murb., *V. lyratifolium* Köchel, *V. protractum* Fenel ex Tchihat., *V. bellum*. Hub.-Mor., *V. dalamanicum*. Hub.-Mor., *V. pseudoholotrichum*. Hub.-Mor., *V. cymigerum* Hub.-Mor., *V. cholorostegium* Bornm. & Murb., *V. linguifolium* Hub.-Mor., *V. pellitum* Hub.-Mor. ve *V. gypsicola* Vural & Aydoğdu türlerinin metanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktiviteleri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra*, *Cryptococcus neoformans*, *Kluyveromyces fragilis*, *Debaryomyces hansenii* ve *Hanseniaspora guilliermondii* mikroorganizmalarına karşı disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Ekstreler, Gr (+) bakteriler ve mantarlara karşı etkili bulunurken, Gr (-)

bakterilere karşı etkili bulunmamıştır (Dulger ve Gonuz, 2004; Dulger vd., 2005; Dulger ve Ugurlu, 2005; Dulger, 2006; Dulger ve Hacıoglu, 2008a; Dulger ve Hacıoglu, 2008b).

V. bottae türünün sıcak sulu ve metanol ekstralarının verimleri sırasıyla %19,7 ve %14,8 şeklinde belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6059), *Micrococcus flavus* (SBUG 16), *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Candida maltosa* (SBUG) bakterilerine karşı ekstraların antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyonu metodu ile belirlenmiştir. Ayrıca, *Staphylococcus* türlerinden; *S. epidermidis* 847, *S. haemolyticus* 535 ve *S. aureus* Kuzey Alman Epidemik suşları (Institute of Hygiene of Mecklenburg-Vorpommern, Greifswald, Germany) da test organizmaları olarak kullanılmıştır. Bitkinin metanol ekstresi *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. flavus*, *S. epidermidis* ve *S. aureus* Kuzey Alman Epidemik organizmalarına karşı düşük aktivite gösterirken, sıcak sulu ekstresi denenen aynı test organizmalarına karşı herhangi bir etki göstermemiştir (Mothana vd., 2010).

V. sinaiticum türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan etanol, metanol, su, butanol ve n-hekzan fraksiyonlarının üç negatif bakteri, 2 pozitif bakteri ve 2 fungi türüne karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır (Talib ve Mahasneh, 2010b).

V. pinetorum Boiss. O. Kuntze türünün çeşitli fraksiyonları antimikrobiyal aktiviteleri bakımından disk difüzyonu metodu ile araştırılmıştır. Sonuç olarak bitkiden elde edilen fraksiyonların *Haemophilus influenzae* bakterisine karşı oldukça duyarlı bir etki gösterdiği belirlenmiştir (Ozcan vd., 2011).

2.11.2.3. Antioksidan aktiviteleri

V. macrurum türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi ve metanol ekstresinden elde edilen farklı fraksiyonların, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikalleri süpürücü aktivite metodu ile antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca, fraksiyonların doğal koruyucu olabileceği düşünülerek Rancimat metodu ile oksidatif ransiditeleri değerlendirilmiştir. Sonuçta, fenilpropanoid glikozidlerce zengin olan fraksiyonun koruyucu olduğu belirlenmiş ve referans madde olarak butil hidroksi toluen (BHT) ve α -tokoferol kullanılmıştır. Buna ek olarak, bitkinin metanol ekstresinden

on farklı doğal bileşik medyum basınçlı likid kromatografisi (MPLC) ile izole edilmiştir. Polihidroksi fenilpropanoid glikozid türevi olan verbaskozit, hem ayçiçeği yağı ile indüklenen oksidatif ransiditede hem de serbest radikalleri süpürücü aktivitede bu 10 bileşik içerisinde en etkili bileşik olduğu belirlenmiştir (Aligiannis vd., 2003).

V. wiedemannianum Fisch & Mey türünün metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi; DPPH serbest radikal süpürücü etki ve β -karoten/linoleik asit sistemlerinde incelendiğinde, ekstrenin DPPH analizinde IC₅₀ değeri 117±0,56 µg/ml; linoleik asit oksidasyonunu inhibisyon derecesi ise %52,5±3,1 olarak bulunmuştur (Tepe vd., 2006).

V. cilicicum, *V. lasianthum*, *V. pterocalycinum* var. *mutense* ve *V. salviifolium* türlerinin metanol ekstrelerinden izole edilen sekonder metabolitlerinin radikal süpürücü aktiviteleri DPPH metodu ile araştırılmıştır. Neticede, izole edilen 6-*O*-vaniloilajugol, ilvensisaponin A, ilvensisaponin C, verbaskozit, β -hidroksiakteozit, martinozit, poliumozit, forsitozit B, angorozit A, dehidrodikoniferil alkol-9'-*O*- β -D-glukopiranozit, apigenin 7-*O*- β -glukopiranozit, luteolin 7-*O*- β -glukopiranozit, luteolin 3'-*O*- β -glukopiranozit ve krizoeriyol 7-*O*- β -glukopiranozit bileşiklerinin radikal süpürücü etkiyi doza bağımlı bir şekilde inhibe ederek antioksidan aktivite gösterdikleri belirlenmiştir (Tatlı vd., 2007a).

V. bottae türünün DPPH radikal süpürücü etkisine bakıldığında oldukça yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür (Mothana vd., 2008). Diğer bir çalışmada ise, yine aynı bitkinin sıcak sulu ve metanol ekstrelerinin farklı dozları kullanılarak DPPH metodu ile antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bitkinin sıcak sulu ekstresi 10, 50, 100, 500 ve 1000 µg/ml dozlarda sırasıyla %0,0, %4,02, %13,00, %23,51 ve %29,00 inhibisyon görülürken, metanol ekstresinde aynı dozlardaki inhibisyon sırasıyla %40,50, %46,70, %53,40, %89,78 ve %93,30 şeklinde bulunmuştur (Mothana vd., 2010).

V. sinaiticum bitkisinden hazırlanan ekstre DPPH radikal süpürücü aktivite testi ile antioksidan aktivitesi IC₅₀=41,7 µg/ml olarak belirlenmiştir (Umer vd., 2010).

V. mucronatum türünün sulu ekstresi ile sulu ekstreten elde edilen fraksiyonlar DPPH radikal süpürücü aktivite ve Demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP) tayini yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri, asetilkolinesteraz (AChE), butirilkolinesteraz

(BChE) inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Yapılan fitokimyasal araştırmalarda ise dört iridoid glikozid (ajugol, okubin, lasianthoside I ve katalpol), iki saponin (ilvensisaponin A ve C) ve bir tane de feniletanoid glikozid (verbaskozit) tanımlanmıştır. Feniletanoid glikozid içeren fraksiyonun DPPH, FRAP ve AChE inhibisyonuna karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Kahraman vd., 2010).

V. pinetorum türünün metanol ekstresinin antioksidan aktivitesi; DPPH radikal süpürücü etki ve β -karoten/linoleik asit sistemlerinde incelendiğinde, DPPH analizinde IC₅₀ değeri 13,04 mg/ml; linoleik asit oksidasyonunu inhibisyon derecesi ise %89,39 olarak bulunmuştur. *V. pinetorum* bitkisinin metanol ekstresinde iridoid glikozidler, flavonoidler ve saponinler major doğal bileşikler olarak tanımlanmıştır (Ozcan vd., 2011).

V. sinuatum türünün etanol ekstresi DPPH serbest radikalleri süpürücü aktivitesi IC₅₀=263,52±5,98 μ g/ml, FRAP IC₅₀=85,08±8,66 μ g/ml ve total fenolik madde miktarı 8,53±0,11 mg/g olarak saptanmıştır. Antioksidan özelliği iyi bilenen gallik asit ise referans madde olarak kullanılmıştır. Sonuç itibari ile, bu bitkinin doğal bir antioksidan olarak iyi bir aday olabileceği düşünölmektedir (Moein vd., 2012).

2.11.2.4. Antinosiseptif, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici etkileri

V. lasianthum türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin farelerde karragenan ile oluşturulmuş arka ayak ödemi ve *p*-benzokinon ile oluşturulmuş kıvranma testlerinde inhibe edici etkisi görölmüştür. Buradan hareketle, ekstreden izole edilen ve oral yolla verilen okubin ve ilvensisaponin A'nın akut toksisite ya da gastrik hasara yol açmadan önemli ölçüde antiinflamatuvar ve antinosiseptif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Kupeli vd., 2007). Aynı metodla, *V. pterocalycinum* var. *mutense* türünün çiçekli kısımlarından metanol ekstresi hazırlanmış ve bu ekstreden izole edilen dört major bileşiğin antiinflamatuvar ve antinosiseptif aktiviteleri araştırılmıştır. Neticede, ilvensisaponin A ve C, karragenan ile oluşturulmuş arka ayak ödemi ve PGE₂'nin indüklediği inflamasyona karşı inhibe edici etkileri bulunurken, ajugol ve pikrozit IV bileşiklerinin her iki metoda karşı herhangi bir etkisi görölmemiştir (Kupeli-Akkol vd., 2007).

V. cilicicum, *V. lasianthum*, *V. pterocalycinum mutense* ve *V. salviifolium* türlerinin metanol ekstraktlarından izole edilen sekonder metabolitlerin hücre agregasyonunu inhibe edici aktiviteleri *in vitro* açıdan araştırılmıştır. Bu bağlamda, 6-*O*-vaniloilajugol, ilvensisaponin A, ilvensisaponin C, verbaskozit, β -hidroksiakteozit, martinozid, poliumozit, forsitozid B, angorozit A, dehidrodikoniferil alkol-9'-*O*- β -D glukopiranozid, apigenin 7-*O*- β -glukopiranozid, luteolin 7-*O*- β -glukopiranozid, luteolin 3'-*O*- β -glukopiranozid ve krizoeriyol 7-*O*- β -glukopiranozid bileşikleri akım sitometrik yöntem ile HL-60 hücrelerinde DFCH (2',7'-diklorodihidrofloressin)'in ROS-katalize oksidasyonunu inhibisyonu test edilmiş, referans madde askorbik asit ile karşılaştırıldığında verbaskozitin en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir. Yine izole edilen tüm bileşiklerin, bağışıklık sistemi ve inflamasyon üzerine etkilerinin tespiti için, lenfosit fonksiyon antijeni-1 (LFA-1) ve intersellüler hücre adezyon molekülü-1 (ICAM-1) aracılığı ile, HL-60 ve HeLa hücrelerinin agregasyon ve adezyonlarının inhibisyonları test edilmiş, referans madde Sitokalazin B ile karşılaştırıldığında İlvensisaponin A orta dereceli bir aktivite göstermiştir. Diğer bileşikler, belirtilen test metodlarında aktif bulunmamıştır (Tatlı vd., 2007b).

V. salviifolium türünün toprak üstü kısımlarının sulu ekstresinden izole edilen flavonoidler ve feniletanoid ile neolignan glikozidlerinin antiinflamatuvar aktiviteleri farelerde karragenan ile oluşturulmuş arka ayak ödemi, PGE₂ ile oluşturulmuş arka ayak ödemi ve 12-*O*-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) ile oluşturulmuş kulak ödemi modelleriyle; antinosiseptif aktiveleri ise *p*-benzokinon ile oluşturulmuş kıvrınma testiyle araştırılmıştır. Luteolin-7-*O*- β -glukopiranozid, luteolin-3'-*O*- β -glukopiranozid, apigenin-7-*O*- β -glukopiranozid ve β -hidroksiakteozit bileşikleri 200 mg/kg dozda karragenan ile oluşturulmuş ayak ödemi önemli ölçüde inhibe etmiştir. Buna ek olarak, luteolin-7-*O*- β -glukopiranozid, luteolin-3'-*O*- β -glukopiranozid ve β -hidroksiakteozit bileşikleri PGE₂ ile oluşturulmuş arka ayak ödemi karşı antiinflamatuvar aktivite göstermiştir. Fakat bileşiklerin hiçbiri TPA ile oluşturulmuş kulak ödemi modelinde etki göstermemiştir. Ayrıca luteolin-7-*O*- β -glukopiranozid ve luteolin-3'-*O*- β -glukopiranozid bileşiklerinin antinosiseptif aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tatlı vd., 2008a).

V. chionophyllum, *V. cilicicum*, *V. dudleyanum* (Hub.-Mor.) Hub.-Mor., *V. latisepalum*, *V. pycnostachyum*, *V. salviifolium* ve *V. splendidum* türlerinin farklı kısımları,

farelerde karragenan ile oluşturulmuş arka ayak ödemi, PGE₂ ile oluşturulmuş arka ayak ödemi ve TPA ile oluşturulmuş kulak ödemi modellerinde antiinflamatuvar aktivite yönünden; *p*-benzokinon ile oluşturulmuş kıvrınma testinde ise antinosiseptif aktivite yönünden çalışılmıştır. *V. chionophyllum* ve *V. pycnostachyum* türlerinin çiçekli, *V. latisepalum* ve *V. salviifolium* türlerinin ise toprak üstü kısımlarının metanol ekstreleri 200 mg/kg dozda herhangi bir görünür akut toksisite ya da gastrik hasara yol açmadan önemli ölçüde antiinflamatuvar ve antinosiseptif aktivite göstermiştir. Bunun yanında, diğer türlerin ekstreleri belirgin bir aktivite göstermemiştir (Tatlı vd., 2008b).

V. chionophyllum, *V. cilicicum*, *V. dudleyanum*, *V. lasianthum*, *V. latisepalum*, *V. mucronatum*, *V. olympicum* Boiss., *V. pterocalycinum* var. *mutense*, *V. pycnostachyum*, *V. salviifolium*, *V. splendidum*, *V. stachydifolium* Boiss. & Heldr. ve *V. uschackense* (Murb.) Hub.-Mor. türlerinden hazırlanan metanol ekstreleri erkek Sprague Dawley cinsi sıçanlarda ve Swiss albino cinsi farelerde yara iyileştirici etkileri açısından araştırılmış ve *V. olympicum*, *V. stachydifolium* ve *V. uschackense* türlerinin metanol ekstreleri her iki deney grubunda da yara iyileştirici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Suntar vd., 2010).

V. mucronatum türünün antiinflamatuvar, antinosiseptif ve yara iyileştirici etkileri tespit edilmiştir. Antiinflamatuvar ve antinosiseptif etkilerinin tespit edilmesi amacıyla karragenan ile oluşturulmuş arka ayak ödemi ve *p*-benzokinon ile oluşturulmuş ağrı testi deney modellerinden yararlanılmıştır. Yara örnekleri histopatolojik açıdan değerlendirilmiştir. Bitkiden 4 tane iridoid glikozid (ajugol, okubin, lasianthoside ve katalpol), 2 saponin (ilvensisaponin A ve C) ve 1 tane de fenilatinoid glikozid (verbaskozit) izole edilmiş ve bileşiklerin yapıları spektral tekniklerle görüntülenmiştir. Bu bileşiklerden verbaskozitin herhangi bir akut toksisite ya da gastrik hasara neden olmadan antinosiseptif, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici aktiviteleri açısından diğer bileşiklere göre en etkili bileşik olduğu belirlenmiştir (Akdemir vd., 2011).

V. xanthophoeniceum Griseb. türünün kaba ekstresi, bitkiden elde edilen farklı fraksiyonlar ve izole edilen saf bileşikler hem *in vitro* hem de *in vivo* açıdan antiinflamatuvar etkinliği araştırılmıştır. Biyoaktif metabolitler düşük basınçlı gradyen ünitesi kullanılarak izole edilmiştir. Kaba metanol ekstresi, farelerde kobra venom faktör ile oluşturulmuş pençe ödemi modelinde değerlendirilirken, bitkiden hazırlanan farklı

fraksiyonlar ve izole edilen maddelerin ise peritoneal makrofajlarda NO ve sitokin üretimi üzerindeki etkileri *in vitro* testlerle incelenmiştir. Ayrıca COX-1 ile COX-2 gen ekspresyonlarının düzeyleri de ölçülmüştür. Sonuç olarak, nigroside VI IL-6 ve NO üretimini, forsitozit B ise TNF- α üretimini yüksek oranda arttırmıştır. Buna karşılık, Leucosceptoside B, makrofajlarda NO salınımını ve COX-1 ekspresyonunu azaltmıştır. Bu bilgilerin ışığında *V. xanthophoeniceum* türünün biyoaktif moleküllerinden dolayı antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Dimitrova vd., 2012).

V. xanthophoeniceum türünün kaba ekstresi, fraksiyonları ve izole edilen akubin, ajugol, harpagoside, nigroside III ile nigroside VI olan iridoid glikozidler ve verbaskozit ile forsitozit B olan fenilatinoid glikozidler insan primer keratinosit hücre kültüründe antiinflamatuvar etkinlikleri değerlendirilmiştir. Dolayısıyla, IL-8, monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve indüklenebilen protein-10 (IP-10) gibi proinflamatuvar kemokinlerin gen ekspresyonları, sentezleri ve salınımları dormant ve interferon gamma (IFN- γ) aktiviteli NHK hücrelerinde araştırılmış ve her bir ekstrenin, fraksiyonlarının ve izole edilen saf maddelerin IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Bu bağlamda, fenilatinoid glikozidlerden verbaskozit ve forsitozit B tüm kemokinlerin *de novo* sentezlerinde ve doz bağımlı gen ekspresyonlarında ekili bulunurken, iridoid glikozidler ve fenilpropanoidlerden aglikon rozmarinik asitin zayıf ve selektif bir inhibisyonu görülmüştür. Sonuç olarak, fenilatinoid glikozidlerin kortikosteroid benzeri bir inhibisyonla hem transkripsiyonel hem de translasyonel düzeyde rol oynadığı tespit edilmiştir (Georgiev vd., 2012).

V. phlomoides bitkisinin çiçekli kısımları su ile ekstre edildikten sonra n-butanol faz kısmı elde edilmiştir. Bitkinin total fenolik madde miktarı spektrofotometrik açıdan değerlendirilmiş ve bazı spesifik bileşikler yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)'de tanımlanmıştır. *V. phlomoides* bitkisinin antioksidan aktivitesi DPPH (IC₅₀=7,09 mg/ml) metoduna göre belirlenmiştir. Ekstrenin total fenolik madde miktarı gallik asite eşdeğer olarak %4,18 şeklinde belirlenmiştir. Ekstrenin HPLC metoduna göre ise majör bileşikler rozmarinik asit (14,93 mg/g), kafeik asit (39,96 mg/g), ferulik asit (29,61 mg/g) ve kuersetin (17,29 mg/g) şeklinde bulunmuş ve verbaskozit tespit edilmemiştir. Ekstre önemli bir şekilde 100 ve 200 μ g/ml dozda TNF- α ile stimüle olan

endotel hücrelerdeki ICAM-1 ekspresyonunu %55-58,8 inhibe ederken, aynı etki sıçanlarda oluşturulan pençe ödem modelinde görülmemiştir. Sonuç olarak, mullein polifenollerini antioksidan aktivitede önemli rol oynarken, antiinflamatuar aktivitede etkin bulunmamıştır (Grigore vd., 2013).

2.11.2.5. İmmünomodülatör aktiviteleri

V. phlomoides, *V. thapsiforme*, *V. lychnitis* L. ve *V. nigrum* L. türlerinin kimyasal yapıları incelenmiş ve bu bitkilerden flavonoidler, saponinler, fenilpropanoidler gibi bileşikler izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin sıçan dalak lenfositlerinin doğal proliferasyonu üzerine *in vitro* etkileri araştırılmıştır. Bu bağlamda, verbaskosaponin, luteolin 7-*O*-glukozit, verbaskozit ve forsitozit B metabolitleri 100 mg/ml dozda sırasıyla %87, %63, %54 ve %29 oranlarında [3H]-timidin DNA'ye bağlanmasını baskılayarak antiproliferatif etki göstermişlerdir. Ayrıca, verbaskozit, forsitozit B ve specioside bileşikleri düşük konsantrasyonda (0,1 mg/ml) proliferasyonda önemli bir artışa (sırasıyla %60, %64 ve %53) neden olmuşlardır. Sonuç olarak yapılan bu öntaramalar bileşiklerin immünomodülatör aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Klimek ve Stepien, 1994).

2.11.2.6. Gastrik ülser aktiviteleri

V. cheiranthifolium var. *cheiranthifolium* türünün sulu ekstresi, farelerde etanol ile oluşturulmuş gastrik ülserle karşı, oral yoldan verildiğinde, ülser gelişimini %86,2 oranında inhibe etmiş ancak ekstre farelerin hiçbirinde tamamen koruma sağlayamamıştır (Gurbuz vd., 2005).

2.11.2.7. Antihepatotoksik aktiviteleri

V. thapsus türünden hazırlanan sıcak sulu ekstrenin farklı dozları (15,6, 31,3, 62,5, 125, 250, 500, 1000 ve 2000 µg/ml) insan karaciğer kanseri HepG2/C3A, SK-HEP-1, HA22T/VGH, Hep3B ve PLC/PRF/5 hücre hatlarına karşı denenerek, ekstrenin antihepatoma aktivitesi bir hücre proliferasyonu kiti ile değerlendirilmiştir. Ekstre 2000 µg/ml dozda HepG2/C3A ve HA22T/VGH hücre hatlarına karşı sırasıyla %31 ve %69,9

oranlarında hücre proliferasyonunu inhibe ederken, kalan diğer hücre hatlarına karşı etkili bulunmamıştır (Lin vd., 2002).

V. sinaiticum türünden hazırlanan ekstre karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulmuş karaciğer deney hasarı modelinde alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve alkalın fosfataz (ALP) hepatik enzim düzeylerini azaltması ile ekstrenin hepatoprotektif etkisi Swiss albino farelerde görülmüştür. Histopatolojik bulgular bitkinin karaciğer koruyucu aktivitesini de doğrulamıştır. Bitkinin hepatoprotektif etkisi, yüksek oranda antioksidan aktiviteye (IC₅₀=41,7 µg/ml) sahip olması ile ilişkilendirilmiştir (Umer vd., 2010).

2.11.2.8. Antihiperlipidemik aktiviteleri

V. thapsus türünün yapraklarından elde edilen oligosakkaridler, sıçanlarda oluşturulmuş hiperlipidemide kolesterol ve trigliserid düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır (Aboutabl vd., 1999).

2.11.2.9. Antidiüretik aktiviteleri

V. nigrum türünün tümü, tohumları, çiçekleri, yaprakları ve sapları olmak üzere beş farklı kısımdan hazırlanan etanol ekstraları sıçanlara oral yolla (tek doz 50 mg/kg) verilerek diüretik aktiviteleri araştırılmıştır. Uygulanan dozdan sonra, üriner atılım ve elektrolit içeriği 3. ve 6. saatlerde ölçülmüştür. *V. nigrum* türünün farklı kısımlarından hazırlanan ekstraların akut toksisiteleri ise farelerde belirlenmiştir. Tohumlu kısımlardan hazırlanan ekstre, diğer kısımlardan hazırlanan ekstralara göre en etkin antidiüretik aktiviteyi göstermiştir. Bitkinin diüretik aktivite göstermesi, bitkinin flavonoid içeriği ile ilişkilendirilmiştir (Kalinina vd., 2014).

2.11.2.10. Antitussif aktiviteleri

Laringofaringeal ve trakeobronşial mukoza alanlarının trakesine cerrahi olarak endotrakeal kanül yerleştirilen bilinci açık kedilerde *V. thapsiforme* türünün karbonhidratlı içeriği spazmodik antitussif aktivitesi açısından test edilmiştir. Öksürme refleksi istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Antitussif ilaçlardan hem narkotik (kodein) hem de

narkotik olmayan (dropropizine) gruplar oluşturularak, maddeler aynı koşullarda denenmiş ve diğer gruplarla karşılaştırabilmek için kullanılmıştır. Sonuç olarak, bitkiye ait karbonhidratlı içeriğin antitussif aktivitesi kodeinden daha düşük bulunurken, dropropizineden ise daha yüksek bulunmuştur. Bitkisel ajanın oral yolla verilmesinden sonra ise balgam oluşum parametrelerinde düşüş gözlenmiştir (Nosalova vd., 2005).

2.11.2.11. Antihelmintik ve antispazmodik aktiviteleri

V. chionophyllum, *V. cilicicum*, *V. dudleyanum*, *V. lasianthum*, *V. latisepalum*, *V. mucronatum*, *V. olympicum*, *V. pterocalycinum* var. *mutense*, *V. pycnostachyum*, *V. salviifolium*, *V. splendidum*, *V. stachydifolium* ve *V. uschackense* türlerinin metanol ekstreleri Swiss albino farelerde (20-25 g) antihelmintik açıdan araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, *V. lasianthum*, *V. latisepalum*, *V. mucronatum* ve *V. salviifolium* Boiss. türlerinin *Aspicularis tetraptera* (100 mg/kg)'ya karşı inhibisyon gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca, *V. dudleyanum* ve *V. pterocalycinum* var. *mutense* türlerinin de oldukça yüksek antihelmintik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Diğer bitki ekstrelerinde ise hiçbir aktivite görülmemiştir (Kozan vd., 2011).

V. thapsus türünden hazırlanan kaba sulu metanolik ekstresi antispazmodik ve antihelmintik aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, ekstre *Ascaridia galli* ve *Raillietina spiralis*'e karşı denenmiş ve her bir kurt negatif kontrol grubuna (albendazol ya da *V. thapsus* ile muamele edilen gruplar) yerleştirilmiş, ardından kurtların hasara uğraması ya da ölüm zamanı dikkate alınmıştır. Buna ek olarak, gevşeme aktivite testleri tavşanların jejunumlarında test edilmiştir. Ekstrenin aktivitesi, potasyum klorür (KCl) ile oluşturulan kasılmalar ve gevşemeler baz alınarak değerlendirilmiş ve atropin ile mukayese edilmiştir. Ayrıca *V. thapsus* ekstresinde flavonoidler, saponinler, tanninler, terpenoidler, glikozidler, karbohidratlar, proteinler ve yağlar tespit edilmiştir. Bitki ekstresinin 10, 20 ve 40 mg/ml dozları *A. galli* ile oluşturulmuş kasılmalar üzerindeki etkisi sırasıyla 4,58, 3,41 ve 2,08 şeklinde belirlenmiştir. Ayrıca, yine aynı dozlar *R. spiralis* üzerinde benzer etki göstermiş ve *V. thapsus* ekstresinin yüksek dozlarda kurt öldürücü etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Gevşeme ve KCl ile oluşturulmuş kasılma aktivitelerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 7,5±1,4 mg/ml (6,57-8,01, n=6) ve 7,9±0,41 mg/ml (7,44-8,46, n=6) şeklinde bulunmuştur (Ali vd., 2012).

2.11.2.12. Antitümör, antianjiyojenik ve sitotoksik aktiviteleri

V. chionophyllum, *V. cilicicum*, *V. pterocalycinum* var. *mutense*, *V. pycnostachyum* ve *V. splendidum* türlerinden hazırlanan metanol ve etilasetat ekstraktları insan malin melanoma kanseri (SK-MEL), skuamöz karsinoma (KB), insan triple negatif meme kanseri (BT-549) ve insan ovaryum kanseri (SK-OV-3) hücre hatlarına karşı sitotoksik etkilerinin belirlenmesi için araştırılmış fakat ekstraktların hiçbirinin herhangi bir hücre hattına karşı kayda değer bir etkisi bulunmamıştır (Tatlı ve Akdemir, 2006).

V. thapsiforme türünün yapraklarından izole edilen flavonolignanlardan hidrokarpin ve sinaitikinin ve flavonlardan krizoeriyol ve luteolin bileşiklerinin sitotoksik etkisi fare lösemi P-388 hücre hattında denenmiş ve tüm bileşiklerin bu hücre hattına karşı doza bağımlı sitotoksik etkisi belirlenmiştir (Afifi vd., 1993). Başka bir çalışmada ise, *V. thapsiforme* türünün yapraklarından hazırlanan ekstre 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) metodu ile murin fibrosarkoma L929sA ve insan meme kanseri MDA-MB231 ile MCF7 hücre hatlarına karşı denenmiş ve ekstre sadece L929sA hücre hattına karşı antitümör etki ($IC_{50}=470\pm 19$ µg/ml) göstermiştir (Kaileh vd., 2007).

V. sinaiticum türünden fraksiyonlanarak hazırlanan etanol, metanol, kloroform, n-hekzan, distile su ve butanol ekstraktları MTT metodu ile HEp-2 (HeLa türevi) karsinoma, insan meme kanseri MCF-7 ve Vero hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. TLC ise aktif olan fraksiyonların tanımlanmasında kullanılmıştır. Aktif olan fraksiyonların apoptotik aktiviteleri ise TUNEL kalorimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Neticede, bitkinin tüm hücre hatlarına karşı çok düşük aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Talib ve Mahasneh, 2010a).

V. sinaiticum türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan etanol, metanol, kloroform, n-hekzan, sulu ve butanol fraksiyonları HEp-2, MCF-7 ve Vero hücre hatlarına karşı antiproliferatif etkileri MTT metodu, apoptotik aktiviteleri ise TUNEL metodu ile belirlenmiştir. TLC metodu ise aktif olan fraksiyonların belirlenmesi için kullanılmıştır. Öncelikle bitkinin etanol ekstresi (100 µg/ml) değerlendirmeye alınmış ve MCF-7 ve Hep-2 hücre hatlarına karşı sırasıyla $40\pm 1,30$ ve $66\pm 11,06$ değerlerinde antiproliferatif etki

göstermiştir. Daha sonra, 100 µg/ml dozdaki metanol, kloroform, n-hekzan, sulu ve butanol fraksiyonları MCF-7 hücre hattına karşı denenmiş ve antiproliferatif aktivite değerleri sırasıyla %23,41±1,61, %152,50±9,63, %120,16±0,49, %45,93±2,82 ve %25,15±2,52 şeklinde belirlenmiştir. Yine aynı fraksiyonlar Vero hücre hattına karşı sırasıyla %21,39±0,97, %105,96±3,85, %77,01±10,86, %26,82±4,38 ve %17,68±1,01 değerlerinde antiproliferatif etki gösterirken, Hep-2 hücre hattına karşı hiçbir etki saptanmamıştır (Talib ve Mahasneh, 2010b).

V. thapsus türünden izole edilen 10 farklı bileşikten 10-deoxyeucommiol ve ajugol bileşikleri hariç geriye kalan diğer bileşiklerin antianjiyojenik ve antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, luteolin ve 3-O-fucopyranosylsaikogenin F bileşiklerinin akciğer kanseri A549 hücre hattında apoptozisi indükleyerek antiproliferatif etkiye sahip oldukları belirlenmiştir (Zhao vd., 2011). *V. thapsus* türünden hazırlanan metanol ekstresinin Vero hücre hattında sitotoksik aktivitesi belirlenmiş ve IC₅₀ değeri MTT testinde 1426 µg/ml olarak bulunmuştur (Escobar vd., 2012).

V. bottae türünün sıcak sulu ve metanol ekstralarının farklı dozları (10, 50, 100, 500, 1000 µg/ml) kullanılarak insan amniyotik epitelyal FL hücre hattına karşı NRU testi ile önemli bir sitotoksik etki bulunmamıştır (Mothana vd., 2010). Diğer bir çalışmada ise, *V. bottae* türünün metanol ekstresinin insan akciğer diploid MRC-5 hücre hattına karşı sitotoksitesisi belirlenmiştir (Mothana vd., 2014).

V. xanthophoeniceum fenilatinoid ve iridoid metabolitlerce zengin bir bitki olup bu metabolitlerin antiinflamatuvar etkinlikten sorumlu olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, *V. xanthophoeniceum* türünün kaba metanol ekstresi ve ekstreten izole edilen verbaskozit insan prostat kanseri LNCaP hücre hattında incelenmiş ve ekstre ile verbaskozit referans madde olan *Serenoa repens* (W. Bartram) Small ekstresi ile mukayese edilerek değerlendirilmiştir. Ayrıca ekstrenin ve verbaskozitin dihidrotestosteron (DHT) ile oluşturulmuş serbest ve total prostat spesifik antijen (PSA) sekresyonu da araştırılmıştır. *V. xanthophoeniceum* ekstresinin ve verbaskozitin insan prostat kanseri LNCaP hücre hattında toksik olmadığı belirlenmiş ve hem ekstrenin hem de verbaskozitin antiandrojen etki göstererek, DHT ile oluşturulmuş serbest ve total PSA sekresyonunda inhibitör aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Dahası, endojen androjen DHT'in yokluğunda *V.*

xanthophoeniceum ekstresinin androgen benzeri bir aktivite gösterdiği saptanmıştır (Marcoccia vd., 2014).

2.11.2.13. Diğer aktiviteler

V. nobile Vel. türünden izole edilen ve bir alkaloid olan nobilinin hipotansif aktivitede rol oynadığı bildirilmiştir (Krushkov vd., 1970).

Psoriasis hastalığı, bulunduğu yerde kızarıklık şeklinde kendini gösteren, büyümesiyle sedef renginde kabuklanmalar oluşturan, derinin üst tabakasının kalınlaşmasına neden olan bir cilt hastalığıdır. Geleneksel tıpta, Sicilya florasında *V. sinuatum* bitkisi gibi bazı bitkilerin bu hastalıkta kullanımı rapor edilmiştir. Bahar mevsiminde toplanan bitkilerin topraküstü kısımları %10'luk alkol ile dekoksasyonu hazırlanmaktadır (Amenta vd., 2000).

Otitis media, bebeklik ile çocukluk dönemlerinde sıklıkla görülen ve çocukların sürekli olarak hekim kontrolünde bulunması gereken bir rahatsızlıktır. Bu yüzden, çocuklara amoksilin içeren ya da içermeyen naturopatik bitkisel ekstrelerden oluşan kulak damlası (*V. thapsus* içeren) tahsis edilmiş ve tedavide etkin olduğu görülmüştür (Sarrell vd., 2003).

V. songaricum Schrenk türünün sulu ekstresi siyanobakteri *Oscillatoria perornata*'ya karşı etkili bulunduktan sonra, sulu ekstrenin biyolojik aktivite rehberli fraksiyonlanması ile algesit etkili bileşik olan okubine ulaşılmıştır (Kobaisy vd., 2006).

V. cheiranthifolium türünün çiçekli kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin, buğday ve arpadaki yetişkin *Rhizopertha dominica*'ya olan insektisidal etkisi incelendiğinde, %3 (a/h) oranında, ekstrenin 14 gün sonunda buğday üzerinde %100, arpa üzerinde ise %63 etkili bulunduğu, hatta %0,25 (a/h) oranında bile her iki ürün üzerindeki *R. dominica* üremesinde %100 baskılayıcı etkisi belirlenmiştir (Khoshnoud vd., 2008).

Yol kenarı, yerleşim yeri, çöplük vs. gibi yerlerden toplanan *V. bombyciferum* Boiss. türünün ağır metal içeriği (Cd^{+2} , Cr^{+3} , Pb^{+2} ve Zn^{+2}) test edildiğinde, yoğun trafik bölgelerinde toplanan örneklerde metal içeriğinin arttığı gözlenmiştir. Bu durum, ağır

metallerin bitkideki birikiminin izlenmesi yoluyla, bitkinin biyoindikatör olarak kullanılabilceği düşünölmektedir (Arslan vd., 2010).

V. latisepalum türünün toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresi NO üretimi aracılığı ile endotel bağımlı relaksasyon etkisi sıçanların aortik halkaları üzerinde denenmiştir. Bitkinin metanol ekstresinden A-F olmak üzere 6 farklı fraksiyon elde edilmiştir. Fraksiyon D'den fenilatinoid glikozid olan verbaskozit izole edilmiş ve spektral tekniklerle verbaskozitin yapısı belirlenmiştir. Sonuç olarak, bitkinin metanol ekstresi, fraksiyon D ve verbaskozitin, ACh ile oluşturulmuş relaksasyon duyarlılığı ve fenilefrin ile önceden kasılmış sıçan aortlarında NO'nin öncül maddesi olan L-arginin varlığında ve yokluğunda denenerek inhibitör etkileri bulunmuştur (Bozkurt vd., 2014).

V. bottae türünün metanol ekstresi antiplazmodial, antileishmanial ve antitripanozomal aktiviteleri açısından araştırılmıştır. Bitkinin metanol ekstresi, *Plasmodium falciparum*'un eritrositik şizontlarına, *Leishmania infantum* ve *Trypanosoma cruzi*'nin intrasellüler amastigotlarına ve *T. brucei*'nin serbest tripomastigotlara karşı test edilmiştir. *V. bottae* türünün metanol ekstresi *L. infantum* (IC₅₀=3,2 µg/ml, SI 10,2) ve *T. brucei* (>14,1) türlerine karşı aktivite göstermiştir. Araştırmacılar, bu sonuçların halk arasındaki kullanımını destekler nitelikte olduğunu vurgulamışlardır (Mothana vd., 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Metanol (Sigma 34860), petrol eteri (Sigma 270709), siproheptadin hidroklorür (Sigma C6022), L-NAME (Sigma N5751), nalokson (Inresa), tramadol hidroklorür (Sigma 42965), asetik asit (Sigma 320099), karragenan (Sigma C1013), indometazin (Sigma I7378), sıçan TNF- α kiti (Invitrogen KRC3011), sıçan IL-1 β kiti (eBioscience BMS630).

3.2. Kullanılan Cihazlar

Döner buharlaştırıcı (evaporatör) (Heidolph Laborota 4002/4003 control), soxhlet ekstraktörü, ultrasonik banyo (Z659584CH), liyofilizatör, vorteks (Sigma Z258415), bulldog clamp, tail flick (May 9604-A Tail Flick Unit, commat, Ankara, Türkiye), hot plate (Ugo Basile Hot/Cold Plate 35100), mikrometrik kumpas (Ozaki Co, Tokyo, Japonya), soğutmalı santrifüj (Mse Mister 2000).

3.3. Bitkinin Toplanması ve Teşhisi

Çalışmamızda, 2012 yılının yaz mevsiminde yapılan arazi çalışmalarıyla Manisa yöresinde endemik yetişen *V. exuberans* türünün topraküstü kısımları Doç. Dr. Kamuran Aktaş tarafından toplanmış ve teşhisi yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *V. exuberans* bitkisi (Aktaş ve Özdemir, 2013).

3.4. Bitkinin Kurutulması ve Toz Hale Getirilmesi

Toplanan bitki öncelikle ot ya da böcek gibi yabancı maddelerden arındırılmıştır. Daha sonra, bitkinin toprak üstü kısımları serin ve gölge olan bir ortamda masaların üzerine serilerek kurutulmuştur. Kurutma sürecinde bitki sık sık ters yüz edilerek çürümesi engellenmiştir. İyice kuruyan bitkinin toprak üstü kısımları öğütücü yardımı ile toz hale getirilmiştir.

3.5. Bitkinin Ekstraksiyonu ve İzolasyonu

- ❖ Toz halindeki bitki materyali çay poşeti şeklinde hazırlanan kurutma kağıdına ilave edilmiş ve kurutma kağıdının çevresi ipe dikilmiştir.
- ❖ Dikilen kurutma kağıdı 250 ml'lik soxhlet deney tüpü içine yerleştirilmiş, darası bilinen 250 ml'lik ekstraksiyon balonuna ise 250 ml metanol konularak 55°C'de soxhlet ekstraktöründe 48 saat boyunca ekstre edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *V. exuberans* bitkisinin soxhlet ekstraktöründe ekstre edilmesi.

- ❖ Yoğunlaştırılmış metanol ekstresinin bulunduğu ekstraksiyon balonu tartılarak ağırlığı belirlenmiş ve darası çıkarıldıktan sonra verim hesaplaması için ekstrenin ağırlığı not edilmiştir.
- ❖ Daha sonra ekstre, homojen bir karışım elde edilinceye kadar yaklaşık 15 ml distile suda çözdürülmüş (sulu ekstre) ve 250 ml'lik ayırma hunisine alınmıştır.
- ❖ Ayırma hunisine alınan sulu ekstre üzerine eşit hacimde petrol eteri eklendikten sonra karışım çalkalanarak petrol eteri ve su fazının ayrılması sağlanmıştır (sıvı-sıvı ekstraksiyonu) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *V. exuberans* ekstresine ait sıvı-sıvı ekstraksiyonu.

- ❖ Daha sonra 100'er ml'lik iki adet ekstraksiyon balonundan birisinde sulu faz diğesinde petrol eteri fazı toplanmıştır.
- ❖ Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemi 5-6 kez tekrarlandıktan sonra klorofil ve lipofilik bileşikler sulu ekstreden uzaklaştırılmıştır.
- ❖ Ardından sulu ekstredeki su 55°C'de çalıştırılan döner buharlaştırıcıda uçurularak ekstre yoğunlaştırılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *V. exuberans* bitkisine ait sulu ekstre nin yoğunlaştırılması.

- ❖ Bitkiye ait yoğunlaştırılmış sulu ekstre ultrasonik banyoda, 10 ml distile suda tamamen çözdürülerek, 15 ml'lik etiketlenmiş kapaklı cam şişeye alınmış ve liyofilizasyon için hazır hale getirilmiştir.
- ❖ Liyofilizasyon işlemi için ekstre öncelikle -80°C'deki derin dondurucuda dondurulmuştur.

3.6. Bitkinin Liyofilizasyonu

- ❖ Liyofilizasyon için -80°C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiş olan ekstre şişesinin ağzı bir parça peçete kağıdı ile kapatılarak liyofilizatöre yerleştirilmiştir.

- ❖ 48 saat sonra ekstre tamamen kuru hale getirilmiş (liyofilize edilmiş) bir şekilde liyofilizatörden çıkarılmış (Şekil 3.5) ve ekstre oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.5. *V. exuberans* bitkisine ait sulu ekstrenin liyofilizasyonu.

3.7. Deneysel Hayvanları ve Ortam Koşulları

Deneysel çalışmamızda 32 ± 4 gram ağırlıkta, erkek sağlıklı erişkin Swiss albino fareler ve 240 ± 20 gram ağırlıkta erkek sağlıklı erişkin Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Tüm deneysel hayvanları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (TİCAM) temin edilmiştir. Deneysel süresince hayvanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Psikofarmakoloji laboratuvarında 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de barındırılmıştır. Deneysel başlamadan önce hayvanların bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu adaptasyon sürecinde tüm fareler ve sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standard pellet yem ve çeşme suyu ile beslenmiştir (*ad libitum*). Bu

çalışma ESOGÜ Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu'nun 22.11.2013 tarihli ve 333-1 nolu kararı ile kabul edilmiştir (EK-1).

3.7.1. Deneysel grupları

Akut antinosiseptif etkinliğinin belirlenmesi için deneysel hayvanları arasından rastgele seçimle her birinde 7 adet sağlıklı erkek Swiss albino fare olmak üzere toplam 7 farklı grup oluşturulmuştur (Çizelge 3.1)

Çizelge 3.1. Antinosiseptif etkinliğin belirlenmesi için oluşturulan deneysel grupları (32±4 g, n=7).

Grup no	Grup adı
1. Grup	Kontrol grubu: Serum fizyolojik (SF) grubu
2. Grup	<i>V. exuberans</i> ekstresi 250 mg/kg grubu
3. Grup	<i>V. exuberans</i> ekstresi 500 mg/kg grubu
4. Grup	Siproheptadin 50 µg/kg+250 mg/kg <i>V. exuberans</i> ekstresi kombinasyonu grubu
5. Grup	L-NAME 100 mg/kg+250 mg/kg <i>V. exuberans</i> ekstresi kombinasyonu grubu
6. Grup	Nalokson 1 mg/kg+250 mg/kg <i>V. exuberans</i> ekstresi kombinasyonu grubu
7. Grup	Pozitif kontrol grubu: Tramadol 10 mg/kg grubu

Akut antiinflamatuvar etkinliğinin belirlenmesi için deneysel hayvanları arasından rastgele seçimle her birinde 8 adet sağlıklı erkek Sprague Dawley sıçan olmak üzere toplam 4 farklı grup oluşturulmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Antiinflamatuvar etkinliğin belirlenmesi için oluşturulan deneysel grupları (240±20 g, n=8).

Grup no	Grup adı
1. Grup	Kontrol grubu: Kontrol grubu: Serum fizyolojik (SF) grubu
2. Grup	Karragenan grubu: 100 µl %1'lik karragenan+SF grubu
3. Grup	250 mg/kg <i>V. exuberans</i> grubu: 100 µl %1'lik karragenan+250 mg/kg <i>V. exuberans</i> ekstresi grubu
4. Grup	10 mg/kg indometazin grubu: Pozitif kontrol grubu: 100 µl %1'lik karragenan+10 mg/kg indometazin grubu

3.7.2. Kimyasal maddeler ve verilif yolları

V. exuberans türünün topraküstü kısımlarından elde edilen ekstre (250 ve 500 mg/kg), siproheptadin, L-NAME, nalokson, tramadol ve indometazin SF'te çözdürülerek hayvanlara i.p., yine SF'te çözdürülen karragenan ise sadece sıçanların sağ arka ayaklarının subplantar dokularına s.c. yolla enjekte edilmiştir. Bütün hayvanlar, ilk enjeksiyondan önce tartılarak ağırlıkları saptanmış ve böylece uygulanan ilaç miktarları belirlenmiştir.

3.8. Antinosiseptif Etkinin Belirlenmesi

Akut antinosiseptif etkinliğinin belirlenmesi için *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testleri ardışık olarak hem ilaç vermeden önce hem de ilaç verdikten sonra olmak üzere 2 kez yapılmıştır.

Bu bağlamda, öncelikle tüm gruplara hiçbir madde uygulaması yapmadan *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testleri sırasıyla uygulanmıştır (ilaç öncesi). Daha sonra SF, 250 mg/kg ve 500 mg/kg *V. exuberans* ve pozitif kontrol olarak kullanılan tramadol (10 mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır (Grup1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 7). Bu kısım 0. dakika şeklinde kabul edilmiştir. 60 dakika bekledikten sonra aynı testler santral antinosiseptif etkiyi belirlemek üzere tekrar uygulanmıştır (Çizelge 3.3).

Ekstrenin antinosiseptif etkisinin saptanmasıyla, *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testleri uygulanmış ve antinosiseptif etkide ağrı ile ilişkili olan nitreerjik, serotonerjik ve opiyoderjik yolları üzerindeki rolü belirlenmiştir. Daha açık bir ifadeyle, bir non-spesifik NOS inhibitörü olan L-NAME (100 mg/kg) nitreerjik yolağın, bir santral 5-HT'in antagonisti olan siproheptadin (50 µg/kg) serotonerjik yolağın ve bir tam opiyat antagonisti olan nalokson (1 mg/kg) opiyoderjik yolağın belirlenmesinde ekstrenin optimal dozu söz konusu maddeler ile kombine edilerek farelere enjekte edilmiştir. Öncelikle, belirlenen gruplara hiçbir madde enjeksiyonu yapılmadan aynı testler sırasıyla uygulanmıştır (ilaç öncesi). Hemen ardından, ekstrenin optimal dozu (0. dk.) ve 30 dakika bekledikten sonra ise siproheptadin, L-NAME ve nalokson enjeksiyonu yapılmıştır (Grup 4, Grup 5 ve Grup 6). 30 dakika sonra aynı testler sırasıyla uygulanarak ekstrenin optimal dozunun yollar üzerindeki rolü değerlendirilmiştir (Çizelge 3.3).

Yapılan testlerin sonuçlarından Olası maksimum etki (% MPE) değeri hesaplanmıştır. Bu formül ise, % MPE=[(İlaç sonrası reaksiyon süresi-İlaç öncesi reaksiyon süresi)/(cut off süresi-İlaç öncesi reaksiyon süresi)]×100 şeklindedir.

Çizelge 3.3. Antinosiseptif etkinliğin belirlenmesinde kullanılan maddelerin uygulanma protokolü (32±4 g, n=7).

Gruplar Süre	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	5. Grup	6. Grup	7. Grup
0. dk	SF	250 mg/kg Vex	500 mg/kg Vex	250 mg/kg Vex	250 mg/kg Vex	250 mg/kg Vex	10 mg/kg Tramadol
30. dk	SF	SF	SF	50 µg/kg Siproheptadin	100 mg/kg L-NAME	1 mg/kg Nalokson	SF

*SF: Serum fizyolojik; Vex: *V. exuberans* ekstresi

3.8.1. Tail clip testi

Antinosiseptif etkinliği santral spinal seviyede değerlendiren bir testtir. Bulldog clamp isimli standard basınç uygulayan bir arter klempisi ile hayvanın kuyruğu kısıtlanmış ve hayvanın klempe verdiği yanıt (örneğin ısırma ve dönme) süresi hesaplanmıştır (Şekil 3.6). Bu testte cut off süresi 30 sn'dir. *Tail flick* testi, *tail clip* testinden sonra uygulanmıştır (Bianchi ve Franceschini, 1954; Dajani vd., 1999).



Şekil 3.6. Tail clip testi ve Bulldog clamp.

3.8.2. Tail flick testi

Antinosiseptif etkinliği santral spinal seviyede değerlendiren bir testtir. Bu metotta, kuyruğun belli bir bđlgesi radyan ısıya maruz bırakılmıştır. Deney dđzeneđinin altında fotosel bir devre mevcuttur. Hayvanın radyan ısı verdikten sonra kuyruğunu çektiği ve fotosel devrenin sđndüđu süre hesaplanmıştır (şekil 3.7). Bu testte cut off süresi 30 sn'dir. *Hot plate* testi, *tail flick* testinden hemen sonra uygulanmıştır (D'Amour ve Smith, 1941).



şekil 3.7. Tail flick testi.

3.8.3. Hot plate testi

Antinosiseptif etkinliği santral supraspinal seviyede değerlendiren bir testtir. Her bir gruptaki hayvan *hot plate* cihazında $55\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ısıtılmış bir plaka üzerine konulmuş ve her hayvanın pençelerini çekip yaladığı süre hesaplanmıştır (şekil 3.8). Bu testte cut off süresi 30 sn'dir (Eddy ve Leimbach, 1983; Noble vd., 1994).



Şekil 3.8. *Hot plate* testi.

Ekstrenin periferel antinosiseptif etkinliğinin araştırılması için asetik asit ile oluşturulan writhing testi (kıvrınma testi) yukarıda belirtilen testlerden (*tail clip*, *tail flick* ve *hot plate*) hemen sonra yapılmıştır.

3.8.4. Asetik asit ile oluşturulan writhing testi

Antinosiseptif etkinliği periferel seviyede değerlendiren bir testtir. Hayvanlara %0,6'lık asetik asit (0,1 ml/10 g) solüsyonu enjekte edilerek peritonit oluşturulmuş ve kıvrınma sayıları (sırtın kabartılması, karın kaslarında kasılma oluşması, vücuttaki uzama ve gerilme hareketi ve ön ayakların ekstansiyonu) asetik asit enjeksiyonundan 5 dakika sonra 10 dakika boyunca sayılmıştır (Koster vd., 1959; Oskay vd., 1989).

3.9. Antiinflamatuvar Etkinin Belirlenmesi

Ekstrenin akut antiinflamatuvar etkinliğinin değerlendirilmesi için karragenan ile oluşturulmuş arka ayak pençe ödemi deney modeli kullanılmıştır. Sıçanlara, *V. exuberans* ekstresi (250 mg/kg) ve antiinflamatuvar etkinliği bilinen indometazin (10 mg/kg) uygulandıktan 30 dakika sonra, ödem oluşturmak amacıyla, hayvanların sağ arka ayaklarının subplantar dokularına 100 µl %1'lik karragenan solüsyonu enjekte edilmiştir (Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.4). Karragenan ile ödem oluşturmadan hemen önceki ölçüm 0. saat şeklinde kabul edilmiştir. Ödem oluşumu öncesi ve sonrasında 60 dakika ara ile her hayvanın ayak kalınlıkları mikrometrik kumpas yardımıyla 6 saat boyunca ölçülerek

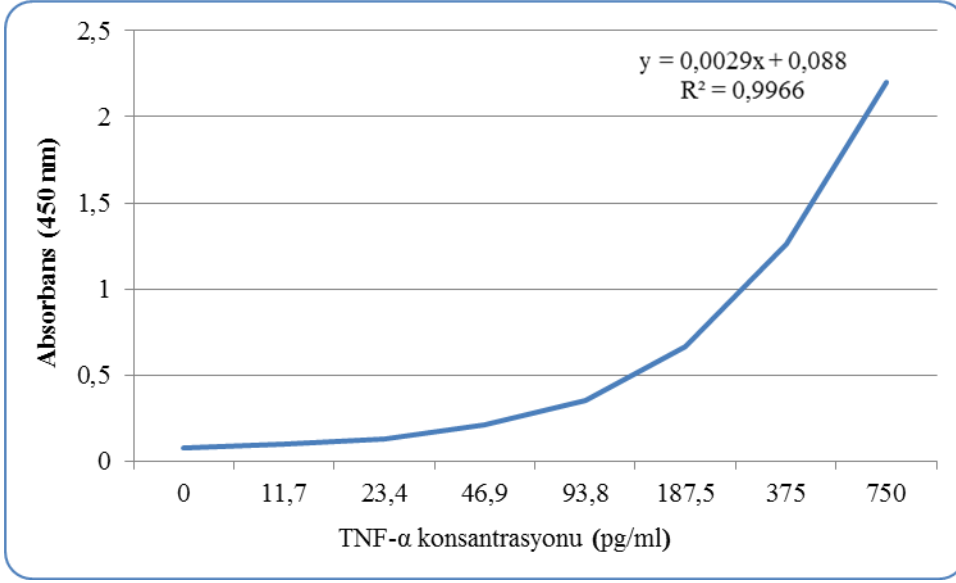
aralarındaki şişme farkı ödem miktarları olarak kaydedilmiştir. Karragenan enjeksiyonundan önce (0. saat) ve 6. saatin sonunda ise, anestezi altında sıçanlardan intrakardiyak kan alımı (1,5-2 ml) yapılmıştır. Alınan kan örnekleri kan tüplerine aktarılarak 3 dakika boyunca 10.000 rpm'de santrifüj edildikten sonra serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örnekleri TNF- α ve IL-1 β proinflatuvar sitokinlerin düzeylerini belirlemek üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir (Amdekar vd., 2012).

Çizelge 3.4. Antiinflatuvar etkinliğin belirlenmesinde kullanılan maddelerin uygulanma protokolü (240 \pm 20 g, n=8).

Süre \ Gruplar	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup
0. dk (ip)	Serum fizyolojik	Serum fizyolojik	250 mg/kg V. <i>exuberans</i>	10 mg/kg İndometazin
30. dk (sc)	Serum fizyolojik	100 μ l %1'lik karragenan	100 μ l %1'lik karragenan	100 μ l %1'lik karragenan

3.9.1. Serum TNF- α düzeylerinin belirlenmesi

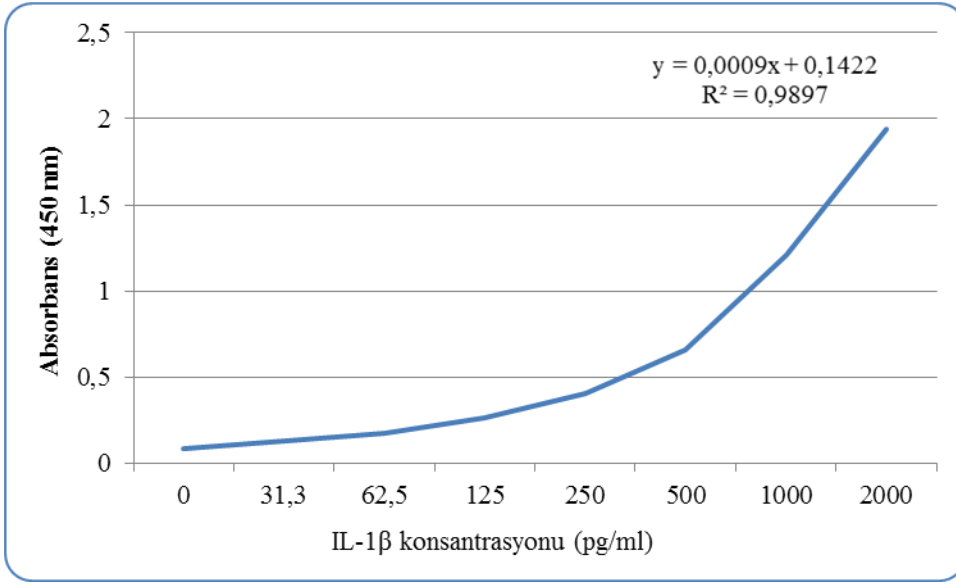
Elde edilen serum örneklerinin TNF- α düzeylerini belirlemek amacıyla buzdolabında (+4°C) muhafaza edilen kit ve içerisindeki solüsyonlar oda sıcaklığına getirilmiştir. Rat TNF- α standardı (750 pg/ml) kit prosedürü doğrultusunda 7 farklı standard noktası (375, 187,5, 93,8, 46,9, 23,4, 11,7 ve 0 pg/ml) oluşturulmuştur. Bu verilerle standard eğri grafiği çizilerek sıçanlardan elde edilen serum örneklerinin TNF- α düzeyleri hesaplanmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Serum TNF- α düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan standard eğri grafiği ($n=8$).

3.9.2. Serum IL-1 β düzeylerinin belirlenmesi

Elde edilen serum örneklerinin IL-1 β düzeylerini belirlemek amacıyla buzdolabında (+4°C) muhafaza edilen kit ve içerisindeki solüsyonlar oda sıcaklığına getirilmiştir. Rat IL-1 β standardı (4000 pg/ml) kit prosedürü doğrultusunda 7 farklı standard noktası (2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 ve 31,3 pg/ml) oluşturulmuştur. Bu verilerle standard eğri grafiği çizilerek sıçanlardan elde edilen serum örneklerinin IL-1 β düzeyleri hesaplanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Serum IL-1 β düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan standard eğri grafiği ($n=8$).

3.10. İstatistiksel Analizler

Antinosiseptif etkinliğin istatistiksel açıdan değerlendirilmesinde IBM SPSS 21 Paket programı kullanılmıştır. Shapiro-Wilk normalite testi elde edilen verilerin normal dağılım uygunluğunu belirlemek için kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren veriler için One Way ANOVA, normal dağılım göstermeyen veriler için ise Kruskal Wallis H testi kullanılarak gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır. İkili karşılaştırma testlerinde varyanslar homojen olduğunda Tukey, varyanslar homojen olmadığına ise Tamhane testleri kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren değerler ortalama \pm SEM, normal dağılım göstermeyen veriler ise M(Q₁-Q₃) şeklinde gösterilmiştir. Karşılaştırma sonucunda ise $p<0,05$ olduğunda ise anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Antiinflamatuvar etkinliğin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi ise SigmaSTAT 3.5 paket programı kullanılmıştır. Bu bağlamda, elde edilen tüm veriler Two Way ANOVA testi (tek faktör tekrarlı) kullanılarak değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda farklılığa neden olan grupların tespitinde ise Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm SEM şeklinde ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Bitkinin Lokalitesi

Manisa yöresinde endemik olarak yetişen *V. exuberans* türünün lokalitesi Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *V. exuberans* türünün lokalitesi.

	Rakım (m)	Bulunduğu il
<i>V. exuberans</i> (Endemik)	110	Celal Bayar Üniversitesi Kampüsü, Fen-Edebiyat Fakültesi girişi yol kenarı, Muradiye-Manisa

*Toplayan: Doç. Dr. Kamuran Aktaş

4.2. Bitki Ekstresinin Verimi

Manisa yöresinden toplanan ve topraküstü kısımlarından hazırlanan *V. exuberans* türüne ait ekstrenin verimi Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *V. exuberans* ekstresinin verimi.

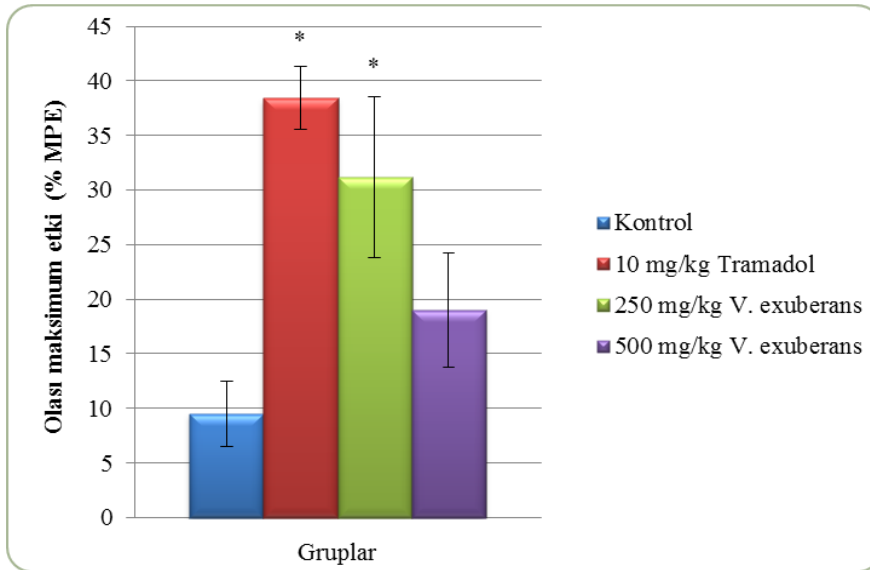
	Toz haldeki ağırlığı (g)	Metanol ekstraktın ağırlığı (g)	Metanolik ekstraktın verimi (%)
<i>V. exuberans</i>	20,354	2,534	12,54

4.3. Antinosiseptif Etki

4.3.1. Santral antinosiseptif etki sonuçları

Tail Clip testinden elde edilen bulguların % MPE değerleri hesaplanmış ve hesaplanan % MPE değerleri normal dağılım gösterdiği için One Way ANOVA testi kullanılarak gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda ise farklılığa neden olan grupların tespitinde Tamhane testi kullanılmıştır.

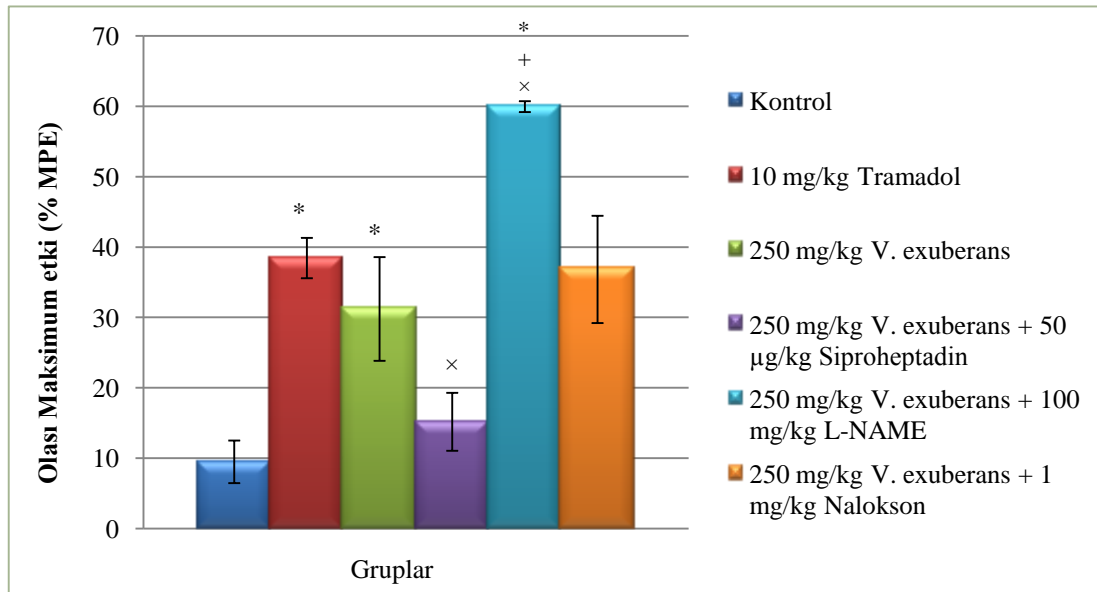
Tail clip testi sonuçlarına göre, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstre grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Ancak, 500 mg/kg *V. exuberans* ekstre grubu yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). *V. exuberans* ekstresinin her iki dozu da 10 mg/kg tramadol grubu ile karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın önemsiz olduğu bulunmuştur ($p>0,05$). Tek doz şeklinde uygulanan 10 mg/kg tramadol grubunun kontrol grubuna göre aralarındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *V. exuberans* ekstresine ait *Tail clip* testi sonuçları ($n=7$).

* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

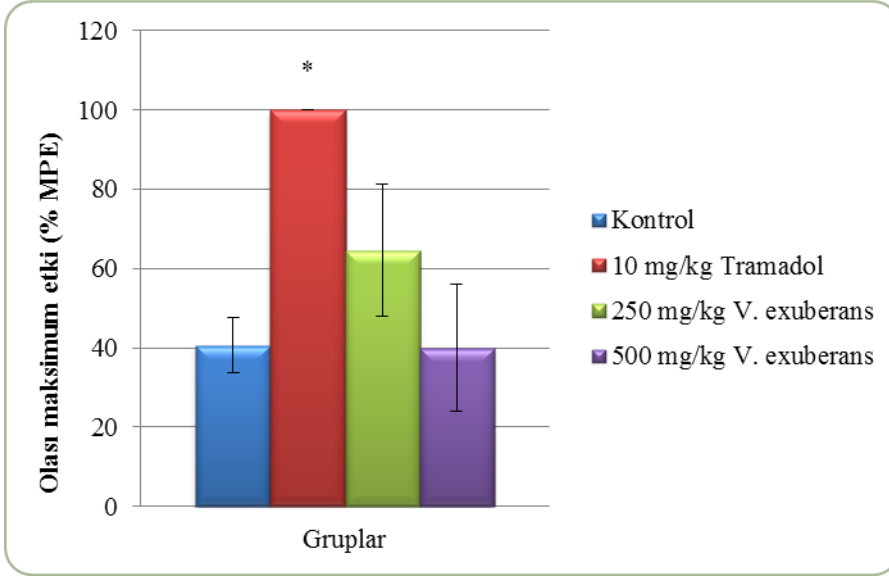
Tail clip testinde 250 mg/kg *V. exuberans*+L-NAME grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemli olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Bu duruma ek olarak, 250 mg/kg *V. exuberans*+L-NAME grubunun hem tramadol hem de 250 mg/kg *V. exuberans* gruplarına göre aralarındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 250 mg/kg *V. exuberans*+50 µg/kg siproheptadin ve 250 mg/kg *V. exuberans*+1 mg/kg nalokson grupları hem kontrol hem de tek başına uygulanan 250 mg/kg *V. exuberans* grupları ile karşılaştırıldığında aralarında önemli bir fark görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.2).



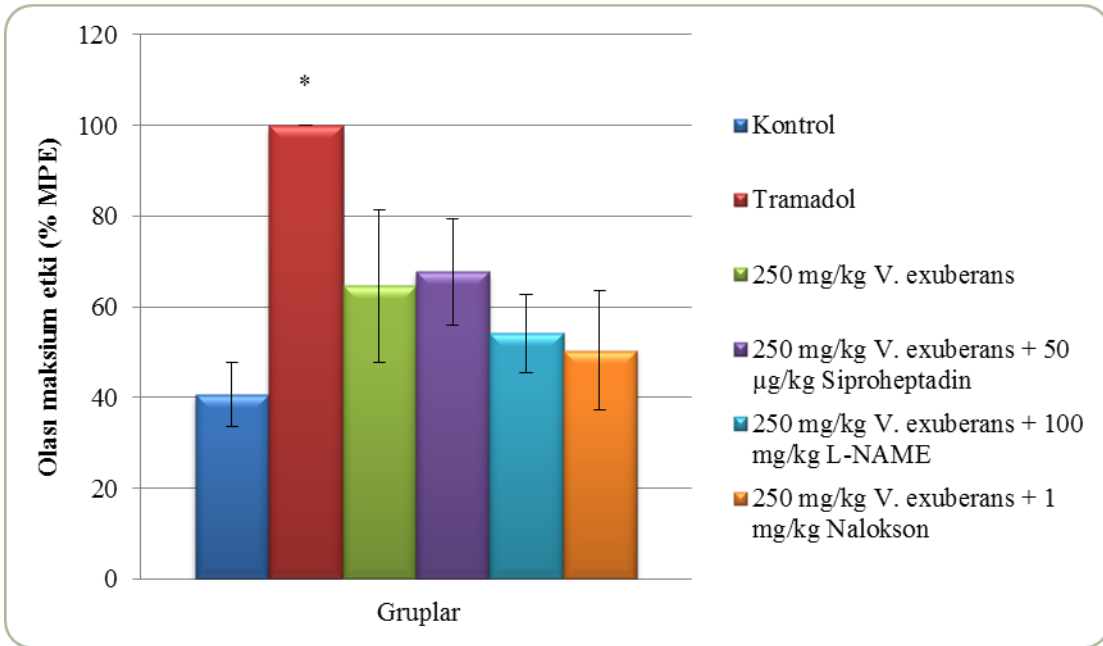
Şekil 4.2. *V. exuberans* ile kombine verilen ilaç gruplarına ait *Tail clip* testi sonuçları ($n=7$).

- * $p<0,05$ kontrol grubuna göre
- + $p<0,05$ *V. exuberans* 250 mg/kg grubuna göre
- × $p<0,05$ tramadol grubuna göre

Tail flick testinden elde edilen bulguların % MPE değerleri hesaplanmış ve hesaplanan % MPE değerleri normal dağılım göstermediği için Kruskal Wallis H testi kullanılarak gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirilmiştir. Sonuç itibari ile, 10 mg/kg tramadol grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın önemli olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında ise fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.3. *V. exuberans* ekstresine ait *Tail flick* testi sonuçları ($n=7$).
* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

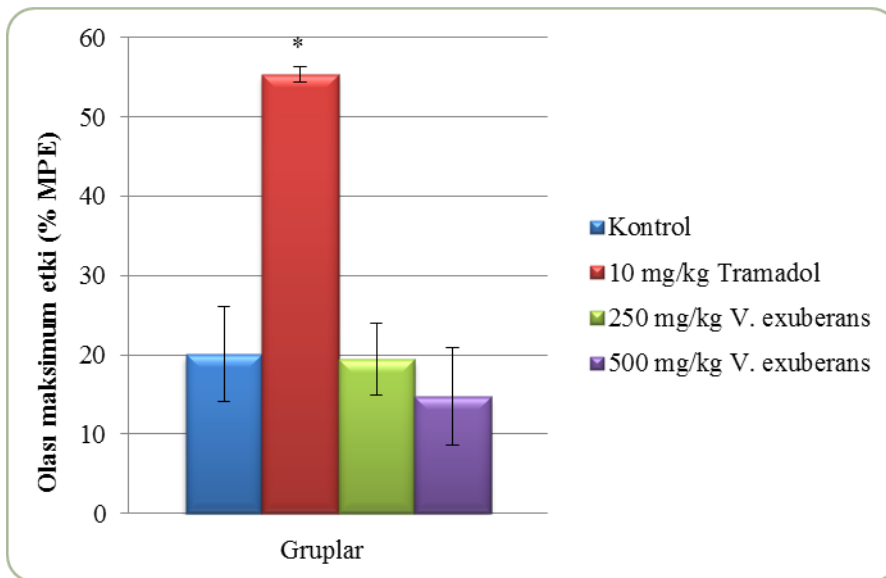


Şekil 4.4. *V. exuberans* ile kombine verilen ilaç gruplarına ait *Tail flick* testi sonuçları ($n=7$).
* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

Hot plate testinden elde edilen bulguların % MPE değerleri hesaplanmış ve % MPE değerleri normal dağılım gösterdiği için One Way ANOVA testi kullanılarak gruplar

arasındaki farklılıklar değerlendirilmiştir. Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise farklılığa neden olan grupların tespitinde Tamhane testi kullanılmıştır.

Hot plate testi sonuçlarına göre, tek doz şeklinde uygulanan 250 ve 500 mg/kg *V. exuberans* ekstre grupları tramadol grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Bu duruma ek olarak, *V. exuberans* ekstresinin her iki dozu birbiri ile karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca, *V. exuberans* ekstresinin her iki doz grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da aralarında bir fark görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.5).

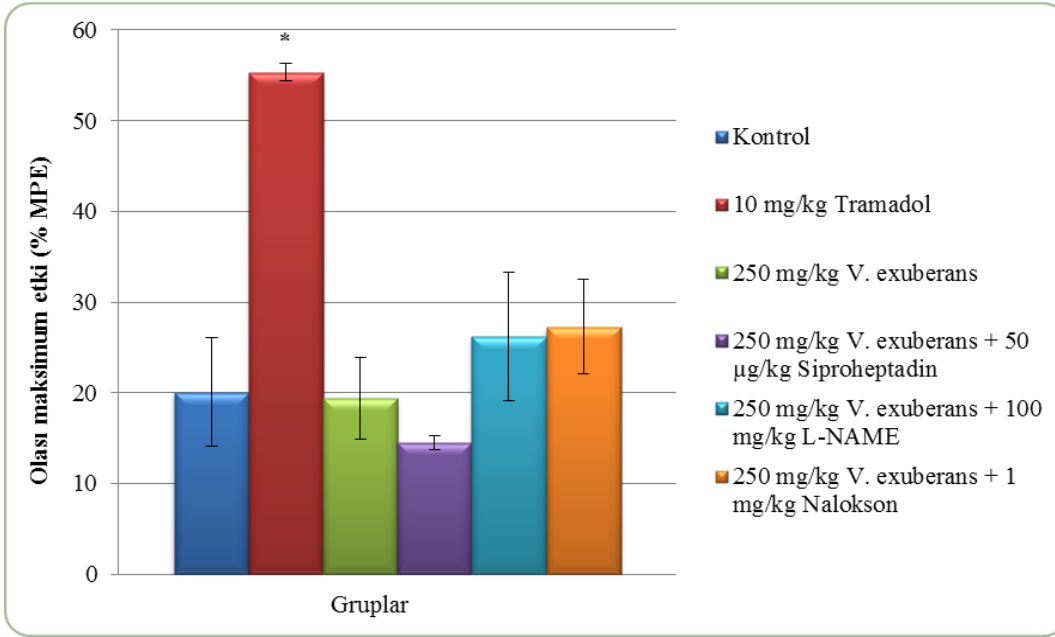


Şekil 4.5. *V. exuberans* ekstresine ait *Hot plate* testi sonuçları ($n=7$).

* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

× $p<0,05$ tramadol grubuna göre

Hot plate testi sonuçlarına göre, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi ile birlikte verilen nalokson, siproheptadin ve L-NAME grupları hem kontrol hem de tek başına uygulanan 250 mg/kg *V. exuberans* grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 4.6).

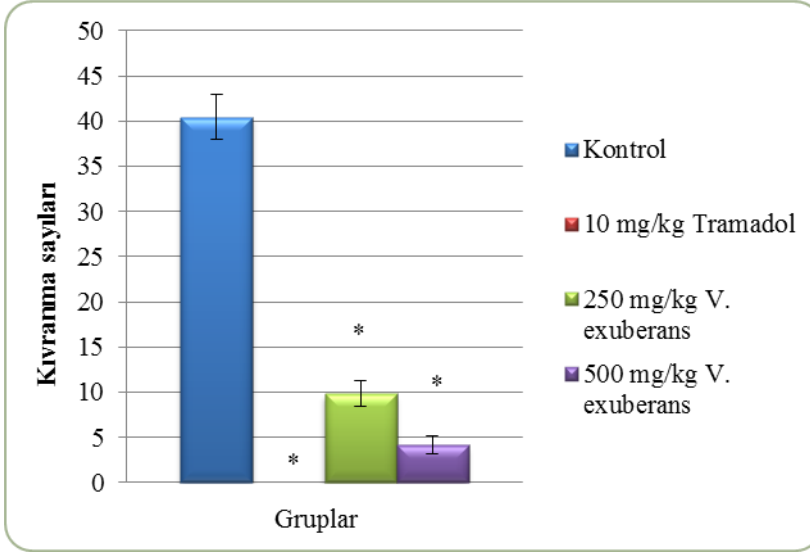


Şekil 4.6. *V. exuberans* ile kombine verilen ilaç gruplarına ait *Hot plate* testi sonuçları (n=7).
* $p < 0,05$ kontrol grubuna göre

4.3.2. Periferik antinösetif etki sonuçları

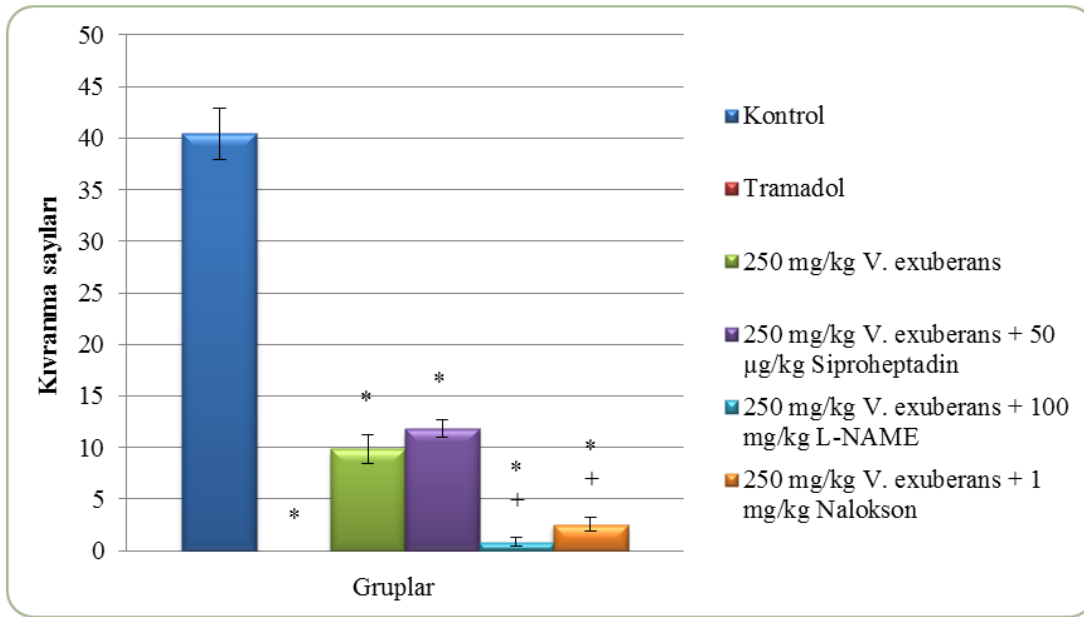
Asetik asit ile oluşturulan writhing testinden elde edilen veriler normal dağılım gösterdiği için One Way ANOVA testi kullanılarak gruplar arasındaki farklılıklar belirlenmiştir. Yapılan ikili karşılaştırmalarda ise farklılığa neden olan grupların tespitinde Tamhane testi kullanılmıştır.

Asetik asit ile oluşturulan writhing testinde 250 mg/kg *V. exuberans*, 500 mg/kg *V. exuberans* ve 10 mg/kg tramadol grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farkın ileri düzeyde önemli olduğu görülmüştür (Şekil 4.7) ($p < 0,001$).



Şekil 4.7. *V. exuberans* ekstresine ait asetik asit ile oluşturulan writhing testi sonuçları ($n=7$).
* $p<0,001$ kontrol grubuna göre

250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi ile birlikte verilen siproheptadin, L-NAME ve nalokson grupları kontrol grubuna göre ileri düzeyde bir fark göstermiştir ($p<0,001$). 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi ile kombine verilen nalokson ve L-NAME grupları tek başına verilen 250 mg/kg *V. exuberans* grubu ile karşılaştırıldığında yine ileri düzeyde bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Ancak, 250 mg/kg *V. exuberans* ile birlikte verilen siproheptadin grubu tek başına uygulanan 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi ile karşılaştırıldığında önemli bir fark görülmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *V. exuberans* ile kombine verilen ilaçların asetik asit ile oluşturulan writhing testi sonuçları ($n=7$).

* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

+ $p<0,05$ *V. exuberans* (250 mg/kg) grubuna göre

Çizelge 4.3. Santral ve periferel antinosiseptif aktivite testlerine ait betimsel istatistikler (32 ± 4 g, $n=7$).

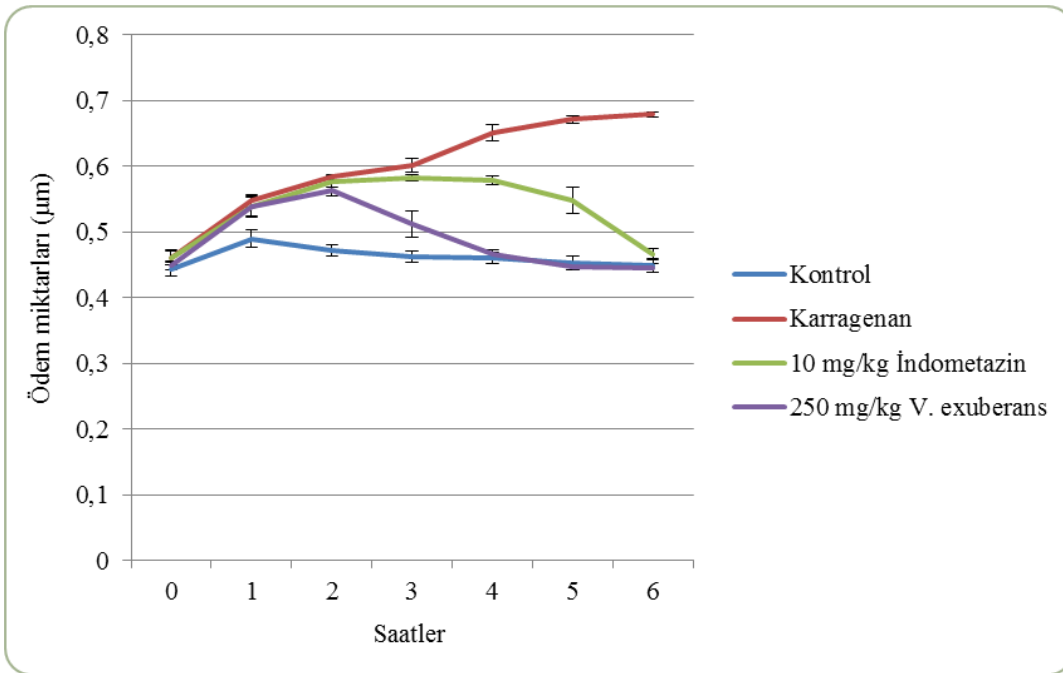
Gruplar	Antinosiseptif testler			
	Tail Clip*	Tail Flick**	Hot Plate*	Writhing*
Kontrol	9,50±8,01	45,00(30,00-53,36)	20,07±15,78	40,43±6,53
250 mg/kg <i>V. exuberans</i>	31,19±19,48	100,00(15,24-100,00)	19,43±11,85	9,86±3,58
500 mg/kg <i>V. exuberans</i>	19,04±13,80	17,83(8,81-100,00)	14,76±16,27	4,14±2,54
250 mg/kg <i>V. exuberans</i> +50 µg/kg Siproheptadin	15,16±10,90	50,00(43,71-100,00)	14,49±1,98	11,86±2,26
250 mg/kg <i>V. exuberans</i> +100 mg/kg L-NAME	59,94±1,94	47,37(32,54-74,61)	26,22±18,84	0,86±1,21
250 mg/kg <i>V. exuberans</i> +1 mg/kg Nalokson	36,81±20,19	38,51(27,01-100,00)	27,27±13,76	2,57±1,72
10 mg/kg Tramadol	38,43±7,63	0,00±0,00	55,31±2,56	0,00±0,00

*Ortalama değer±standard sapma, **M(Q₁-Q₃) şeklinde ifade edilmiştir.

4.4. Antiinflamatuvar Etki Sonuçları

4.4.1. Karragenan ile oluşturulmuş pençe ödemi modeli etki sonuçları

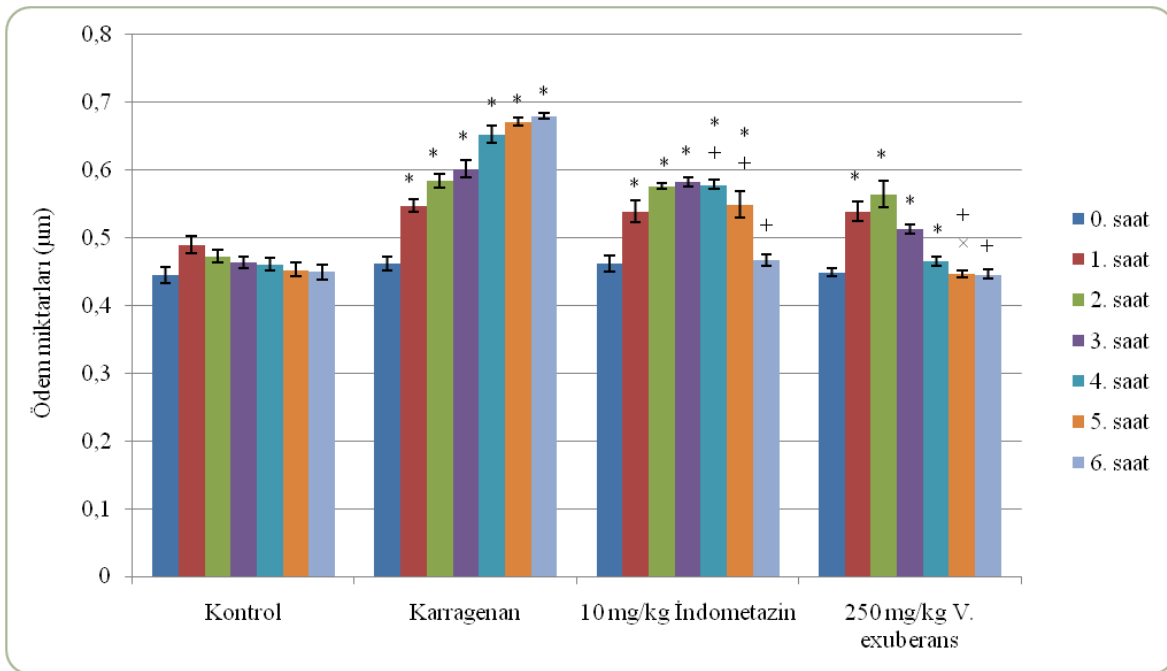
Kontrol grubundan elde edilen ölçümler kendi içerisinde değerlendirildiğinde 1. saatteki ölçümlerin 0., 5. ve 6. saatlerdeki ölçümlere göre aralarında önemli bir farkın olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Geriye kalan saatlerdeki ölçümler kendi içerisinde karşılaştırıldıklarında ise aralarındaki farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). Karragenan grubunda ise 4. ve 5., 4. ve 6., ve 5. ve 6. saatlerdeki ölçümler birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Geriye kalan saatlerdeki ölçümler kendi içerisinde karşılaştırıldıklarında ise aralarındaki farkın ileri düzeyde önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,001$). 10 mg/kg indometazin uygulanan grupta, 1. saatteki ölçümler 0. ve 6. saatteki ölçümler ile, 3. saatte ölçümler 1., 5. ve 6. saatteki ölçümler ile, 4. saatteki ölçümler 0., 1. ve 6. saatteki ölçümler ile, 5. saatteki ölçümler 0. ve 6. saatteki ölçümler ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Geriye kalan saat ölçümleri birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında önemli bir farkın olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). 250 mg/kg *V. exuberans* ekstre grubunda 3. saatteki ölçümler 2. ve 4. saatteki ölçümler ile, 5. saatteki ölçümler 1., 2., ve 4. saatlerdeki ölçümler ile karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın önemsiz kabul edilmiştir ($p>0,05$). Ayrıca, 0. ve 6. saatteki ölçümler birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.9. Grupların saatlere göre ödem miktarlarını gösteren çizgi grafiği ($n=8$).

Karragenan ile ödem oluşturulmadan hemen önceki ölçüm 0. saat şeklinde kabul edildiği için gruplar arasında herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Birinci, 2. ve 3. saatlerde yapılan ölçümlerde, 250 mg/kg *V. exuberans*, 10 mg/kg indometazin ve karragenan grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında gruplar arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Birinci ve 2. saatlerdeki ölçüm sonuçlarına göre, karragenan ve 250 mg/kg *V. exuberans* grupları 10 mg/kg indometazin grubu ile karşılaştırıldıklarında gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Üçüncü saatte yapılan ölçümlerde, 250 mg/kg *V. exuberans* grubunun karragenan ve 10 mg/kg indometazin gruplarına göre önemli bir farkın olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Üçüncü ve 5. saatlerdeki ölçümlerde, 10 mg/kg indometazin ve karragenan grupları birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarındaki fark önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Dördüncü ve 5. saatlerdeki ölçümlerde, karragenan ve 10 mg/kg indometazin gruplarının kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli bir farkın olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$). Ayrıca, 4. ve 5. saatlerde 250 mg/kg *V. exuberans* ve 10 mg/kg indometazin grupları karragenan grubu ile karşılaştırıldıklarında gruplar arasındaki farkın ileri düzeyde önemli olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$). 250 mg/kg *V. exuberans* grubu 10 mg/kg indometazin grubu ile

karşılaştırıldığında (4. saat) aralarındaki farkın ileri düzeyde olduğu görülmüştür ($p<0,001$). Beşinci saatte yapılan ölçümlerde ise 250 mg/kg *V. exuberans* grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Altıncı saatte yapılan ölçümlerde hem 250 mg/kg *V. exuberans* hem de 10 mg/kg indometazin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarında önemli bir farkın olmadığı ($p>0,05$), yine aynı gruplar karragenan grubu ile karşılaştırıldığında aralarında ileri düzeyde önemli bir farkın olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$). Bu duruma ek olarak, 6. saatte yapılan ölçümler sonrasında 250 mg/kg *V. exuberans* ve 10 mg/kg indometazin grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Diğer taraftan, karragenan grubu kontrol grubu (6. saat) ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farkın ileri düzeyde olduğu saptanmıştır ($p<0,001$).



Şekil 4.10. Grupların saatlere göre ödem miktarlarını gösteren sütun grafiği ($n=8$).

* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

+ $p<0,05$ karragenan grubuna göre

× $p<0,05$ indometazin grubuna göre

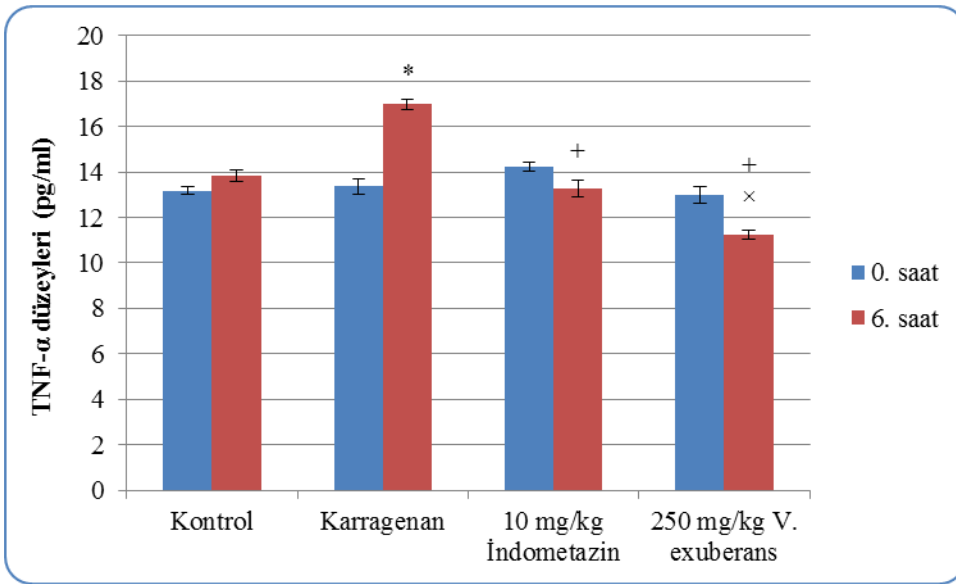
Çizelge 4.4. Antiinflatuvar aktivite modeline göre gruplara ait betimsel istatistikler (240 ± 20 g, $n=8$).

Saat \ Gruplar	Kontrol	Karragenan	10 mg/kg indometazin	250 mg/kg V. exuberans
0. saat	0,44±0,03	0,46±0,03	0,46±0,03	0,49±0,02
1. saat	0,49±0,04	0,55±0,03	0,54±0,05	0,54±0,04
2. saat	0,47±0,02	0,58±0,01	0,58±0,02	0,56±0,03
3. saat	0,46±0,02	0,60±0,03	0,58±0,01	0,51±0,06
4. saat	0,46±0,02	0,65±0,04	0,58±0,02	0,47±0,02
5. saat	0,45±0,03	0,67±0,02	0,55±0,06	0,45±0,01
6. saat	0,45±0,03	0,68±0,01	0,46±0,02	0,45±0,02

*Veriler ortalama±SEM şeklinde ifade edilmiştir.

4.4.2. Serum TNF- α düzey sonuçları

Sıfırıncı saatteki TNF- α düzey sonuçlarına göre gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Altıncı saatteki TNF- α düzey sonuçlarına göre ise, karragenan grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca, 10 mg/kg indometazin ve 250 mg/kg V. exuberans gruplarının kontrol grubuna göre önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). 250 mg/kg V. exuberans grubu 10 mg/kg indometazin grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın ileri düzeyde önemli olduğu görülmüştür ($p<0,001$) (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Grupların saatlere göre serum TNF- α düzey sonuçları ($n=8$).

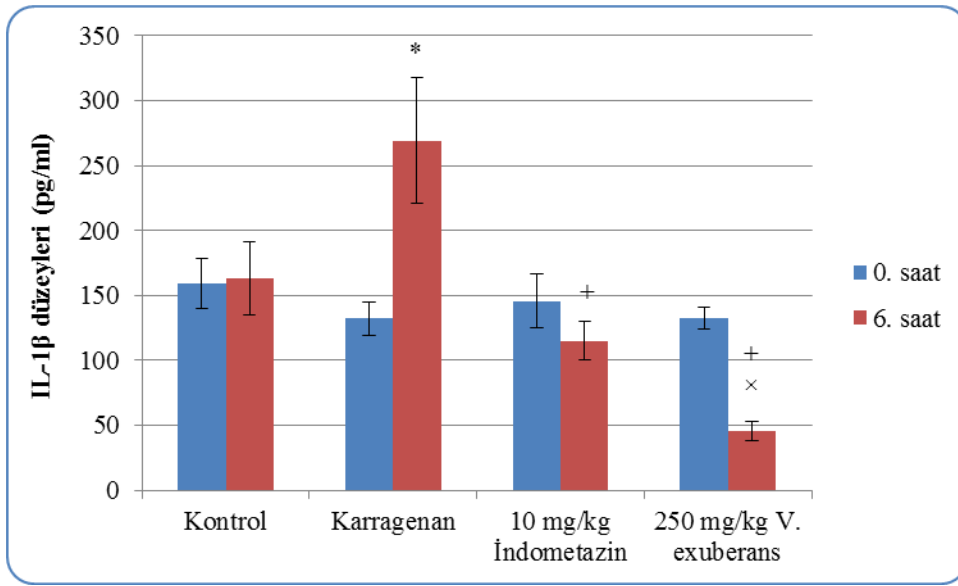
* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

+ $p<0,05$ karragenan grubuna göre

× $p<0,05$ indometazin grubuna göre

4.4.3. Serum IL-1 β düzey sonuçları

Sıfırıncı saatteki IL-1 β düzey sonuçlarına göre gruplar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Altıncı saatteki IL-1 β düzey sonuçlarına göre ise, karragenan grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca, 10 mg/kg indometazin ve 250 mg/kg *V. exuberans* gruplarının kontrol grubuna göre önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). 250 mg/kg *V. exuberans* grubu 10 mg/kg indometazin grubu ile karşılaştırıldığında aralarındaki farkın ileri düzeyde önemli olduğu görülmüştür ($p<0,001$) (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Grupların saatlere göre serum IL-1 β düzey sonuçları ($n=8$).

* $p<0,05$ kontrol grubuna göre

+ $p<0,05$ karragenan grubuna göre

× $p<0,05$ indometazin grubuna göre

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitkilerle tedavi oldukça sık bir şekilde ele alınmaktadır. Özellikle bazı hastalıkların tedavisinde farmakopelere girmiş olan droglar uzmanlar tarafından da tavsiye edilerek kullanılmaktadır. Ülkemizde geniş yayılış gösteren *Verbascum* türlerinin birçok hastalığın tedavisinde halk arasında yaygın bir şekilde kullanıldığı yapılan araştırmalarla rapor edilmiştir (Baytop, 1999; Tuzlaci ve Erol, 1999; Sezik vd., 2001; Gürhan ve Ezer, 2004; Turker vd., 2004; Akdemir vd., 2011; Arıtuluk ve Ezer, 2012). Buradan hareketle, günümüzde halk arasında kullanılan tıbbi bitkilerin hastalıkların tedavisinde doğru bir şekilde kullanılabilmeleri için deneysel açıdan değerlendirilmeleri gerekmektedir. Literatür verilerine göre, ülkemizde yayılış gösteren bazı *Verbascum* türlerinin ve söz konusu türlerden izole edilen saf maddelerin *p*-benzokinon ile oluşturulan kıvranma testi yöntemi ile periferik düzeyde antinosiseptif etkili oldukları bildirilmiştir (Kupeli-Akkol vd., 2007; Tatli vd., 2008a; Tatli vd., 2008b; Akdemir vd., 2011).

Bu bilgilerden hareketle, *V. exuberans* türünün topraküstü kısımlarından elde edilen sulu ekstrenin akut santral ve periferik antinosiseptif etkinliğini, bu etkide serotonerjik, nitrerjik ve opiyoderjik yolaklar üzerindeki rolünü ve akut antiinflamatuvar etkisini belirlemek üzere *in vivo* deney modelleri oluşturularak farmakolojik açıdan araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda, toplanan *V. exuberans* bitkisinin topraküstü kısımları serin ve gölge bir ortamda kurutulduktan sonra toz hale getirilmiştir. Toz haldeki topraküstü kısımları metanol ile ekstre edilmiş ve yoğunlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılan metanol ekstresi suda çözdürüldükten sonra eşit hacimdeki petrol eteri ile partisyona tabi tutulmuş ve kalan sulu faz liyofilize edilerek ekstre hazır hale getirilmiştir.

Deney hayvanlarında uygulamak amacıyla çeşitli nosiseptif ağrı modelleri geliştirilmiştir. Farelerde en çok kullanılan ağrı modellerinden bazıları *tail clip*, *tail flick*, *hot plate* ve asetik asit ile oluşturulan writhing testleridir. *Tail clip* (Bianchi ve Franceschini, 1954; Dajani vd., 1999) ve *tail flick* (D'Amour ve Smith, 1941) testleri nosisepsiyonu santral spinal düzeyde, *hot plate* (Eddy ve Leimbach, 1953; Noble vd., 1994) testi santral supraspinal düzeyde, asetik asit ile oluşturulan writhing testi (Koster vd., 1959; Oskay vd., 1989) ise nosisepsiyonu periferik düzeyde belirlemektedir. *Tail clip* testi

basınç yoluyla, *tail flick* ve *hot plate* testleri ise akut termal yol ile nosisepsiyon oluşturan deney modelleridir (Barrot, 2012). Çalışmamızda, *Tail clip* testinden elde edilen % MPE verilerine göre, tek doz şeklinde uygulanan 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin santral spinal düzeyde antinosiseptif etkili olduğu belirlenirken ($p<0,05$), ekstrenin 500 mg/kg'lık dozunda bu etki gözlenmemiştir ($p>0,05$). *Tail flick* testinden elde edilen % MPE sonuçlarına göre *V. exuberans* ekstresinin her iki dozu (250 ve 500 mg/kg) kontrol ve tramadol gruplarına göre hem santral spinal hem de santral supraspinal düzeyde etki göstermemiştir ($p>0,05$). *Hot plate* testinde ise *V. exuberans* ekstresinin her iki dozu da tramadol grubuna göre santral spinal etkisi anlamsız bulunmuştur ($p>0,05$). Asetik asit ile oluşturulan writhing testinde *V. exuberans* türünün her iki dozunun da kontrole göre periferik antinosiseptif etkisi bulunmuştur ($p<0,001$). Özellikle ekstrenin 500 mg/kg'lık dozu söz konusu testteki kıvranma sayılarını 250 mg/kg'lık doza göre önemli ölçüde azaltmıştır ($p<0,05$).

Tramadol zayıf opiyat özelliği olan santral ve periferik etkili bir analjezik olup bu etkisinin opiyoderjik, noradrenerjik ve serotonerjik sistemlere aracılık ettiği bilinmektedir (Yalcin ve Aksu, 2004). Çalışmamızda pozitif kontrol olarak kullanılan tramadolün *tail clip* ve *tail flick* testlerinde kontrol grubuna göre santral spinal ($p<0,001$), *hot plate* testinde ise santral supraspinal düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca, asetik asit ile oluşturulan writhing testinde tramadol kıvranma sayılarını kontrol grubuna göre büyük oranda azaltarak periferik düzeyde antinosiseptif etkili olduğu belirlenmiştir.

Deneysel verilerimize göre, *V. exuberans* ekstresinin 250 mg/kg'lık dozu etkin doz şeklinde belirlenmiş ve bu etkin dozun nosisepsiyonda rol oynayan serotonerjik, nitreerjik ve opiyoderjik yollar üzerindeki rolü belirlenmiştir.

5-HT ve 5-HT reseptörlerinin nosiseptif reflekslerin modülasyonunda karmaşık bir şekilde rol oynadıkları yapılan *in vivo* deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur. 5-HT reseptörleri, nosiseptif uyarının tipine, reseptörün alttipine ve doza bağımlı olarak agonistik ya da antagonistik şekilde nosiseptif sürecin inhibisyonunda ya da aktivasyonunda rol oynadıkları bilinmektedir. Özellikle 5-HT₂ ve 5-HT₃ reseptörlerinin nosiseptif transmisyonun modülasyonunda etkili olduğu rapor edilmiştir (Tokunaga vd., 1998). Bu duruma ek olarak, 5-HT reseptörünün santral düzeyde antinosiseptif, periferik

düzeyde ise pronosiseptif etkili olduğu bildirilmiştir (Kilic vd., 2011). Çalışmamızda, nonselektif bir 5-HT₂ reseptör antagonisti olan siproheptadin *V. exuberans* ekstresi ile kombine edilerek ekstrenin antinosiseptif etki ile ilişkili serotonerjik yolak üzerindeki rolü araştırılmıştır. Bu bağlamda, *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testlerine göre 250 mg/kg *V. exuberans*+50 µg/kg siproheptadin grubu hem kontrol hem de 250 mg/kg *V. exuberans* gruplarına göre istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır ($p>0,05$). Siproheptadinin latens sürelerine karşı gösterdiği tepkinin dual olduğu rapor edilmiştir. Siproheptadinin düşük dozlarda (0,01, 0,03, 0,3 ve 1 mg/kg) latens sürelerini azalttığı, yüksek dozlarda (10 ve 30 mg/kg) ise latens sürelerini arttırdığı gösterilmiştir (Ramabadran ve Jacob, 1982). Çalışmamızda, siproheptadinin 0,05 mg/kg'lık dozu kullanılmıştır. Dolayısıyla, *V. exuberans* ekstresinin siproheptadin ile kombinasyonunda *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* testlerinin latens sürelerini uzatma potansiyeline bağlı olarak ekstrenin nosisepsiyondaki rolünün ortaya konması amaçlanmıştır. Neticede, *V. exuberans* ekstresi siproheptadin ile birlikte verildiğinde söz konusu testlerin latens süreleri üzerine anlamlı bir etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Asetik asit ile oluşturulan writhing testinde 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi+50 µg/kg siproheptadin grubu kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde periferal düzeydeki etkisi ileri düzeyde önemli bulunurken ($p<0,001$), tek başına uygulanan 250 mg/kg *V. exuberans* grubuna göre bu etkide anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Ayrıca, siproheptadin (50 µg/kg) tek doz şeklinde farelerde uygulanmadığı için *V. exuberans* ekstresinin serotonerjik sistemdeki rolü açık bir şekilde ifade edilememiştir. Bulgularımız doğrultusunda, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin hem santral hem de periferal nosisepsiyonda serotonerjik sistemle ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Bu duruma ek olarak, *V. exuberans* türünün sulu ekstresinde serotonerjik yolağı indükleyen sekonder metabolitlerinin olmaması diğer olasılıklar arasında bulunmaktadır.

L-arginin-NO-cGMP-K_{ATP} kanalının aktivasyonu sonrasında antinosiseptif etkinin olduğu ve bu süreçte NO donorlerinin antinosiseptif etkiye katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Soares vd., 2000). NO, K⁺ kanallarını açarak ve cGMP sistemini aktive ederek ağrı sürecinde rol oynamaktadır (Soares ve Duarte, 2001). Çalışmamızda, selektif bir NOS inhibitörü olan L-NAME *V. exuberans* ekstresi ile kombine edilerek ekstrenin ağrı ile ilişkili olan nitretrjik yolak üzerindeki etkisi araştırılmıştır. *Tail clip* testinden elde edilen % MPE verilerine göre, 250 mg/kg *V. exuberans*+100 mg/kg L-NAME grubunun santral

spinal düzeyde etkisi kontrol grubuna göre ileri düzeyde önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Ayrıca, 250 mg/kg *V. exuberans*+100 mg/kg L-NAME grubunun 250 mg/kg *V. exuberans* ekstre grubuna göre santral spinal düzeydeki rolü anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak, *tail flick* ve *hot plate* testlerinde *V. exuberans* ekstresinin L-NAME ile kombinasyonunda *V. exuberans* ekstresinin santral nosisepsiyonda nitretrjik yolakla ilişkili anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir ($p>0,05$). Asetik asit ile oluşturulan writhing testi sonuçlarına göre, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi+100 mg/kg L-NAME grubu hem kontrol hem de 250 mg/kg *V. exuberans* gruplarına göre kıvranma sayılarını önemli oranda azaltarak periferik nosisepsiyonda etkili olmuştur ($p<0,001$). Sonuç olarak, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin santral spinal ve periferik antinonoseptif etkide nitretrjik yolak üzerinden etkili olduğu bu çalışmayla ortaya konmuştur.

Opiyoderjik sistemin aktivasyonu güçlü bir analjezik etkinin varlığını göstermektedir. Çalışmamızda, opioid reseptör antagonisti olan nalokson *V. exuberans* ekstresi ile kombine edilerek ekstrenin ağrı ile ilişkili opiyoderjik yolaktaki rolü belirlenmiştir. *Hot plate* testinden elde edilen % MPE verilerine göre, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi+1 mg/kg nalokson grubu tramadol grubuna göre santral supraspinal düzeyde etkili bulunurken ($p<0,05$), kontrol ve 250 mg/kg *V. exuberans* ekstre grupları ile karşılaştırıldığında etkisiz bulunmuştur ($p>0,05$). Dolayısıyla, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin *tail clip*, *tail flick* ve *hot plate* test sonuçlarına göre ekstrenin santral antinoseptif etkide rol oynamadığını ve bu etkinin opiyoderjik yolakla ilişkili olmadığını belirlenmiştir. Asetik asit ile oluşturulan writhing testinde, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi+1 mg/kg nalokson grubu kıvranma sayılarını azaltarak hem kontrol hem de tek başına verilen 250 mg/kg *V. exuberans* grubuna göre ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Sonuç olarak, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin periferik antinoseptif etkide opiyoderjik yolak üzerinden etkili bir şekilde rol oynadığı düşünülmektedir.

Bulgularımız, *V. exuberans* ekstresinin (250 mg/kg) santral spinal düzeyde ve ekstrenin (250 ve 500 mg/kg) periferik düzeyde antinoseptif etkili olduğunu göstermiştir. Bu bilgilere ek olarak, *V. exuberans* ekstresinin (250 mg/kg) periferik antinoseptif etkide hem nitretrjik hem de opiyoderjik yollara aracılık ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, *V. exuberans* ekstresinin (250 mg/kg) santral spinal düzeyde nitretrjik yolak üzerinden etki

göstermiştir. *V. exuberans* ekstresinin söz konusu yolakları tercih etmesi ekstredeki sekonder metabolitlerin bu yolakları indüklemesi ile açıklanabilir.

Sıçan pençesinde karragenanla oluşturulan deney modeli, ödem ve hiperaljezi oluşumunu gösteren klasik bir model olup, baskın bir PGE₂ cevabı oluşturmaktadır (Albelda vd., 1994; Guay vd., 2004). Bunun yanında bu deney modelinde 1. ve 3. saatler arasında PGE₂ seviyesinin dört kata kadar yükseldiği ve birkaç saat daha yüksek kaldığı bildirilmiştir (Zhang vd., 1997). Ayrıca, karragenan enjeksiyonundan sonra oluşan inflamatuvar cevap yaklaşık 3 saat sonra pik yapmaktadır (Romero vd., 2005). Çalışmamızda, tek başına uygulanan karragenan grubunun 3. saatteki ödem miktarları kontrol grubuna göre önemli bir farkın olduğu tespit edilmiş ($p<0,05$) ve ilerleyen saatlerde ödem miktarlarında artış gözlenmesine rağmen 4. ve 5., 4. ve 6., ve 5. ve 6. saatlerdeki ölçümler birbirleriyle karşılaştırıldıklarında aralarındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Çalışmamızda tek başına uygulanan karragenanın ödem miktarını 3. saatte pik yaptırması Romero ve arkadaşlarının (2005) çalışmasıyla uygunluk göstermektedir.

Karragenan ile oluşturulan arka ayak pençe ödem modelinin nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların ve selektif COX-2 inhibitörlerinin geliştirilmesinde kullanılan bir model olduğu rapor edilmiştir (Ibuki vd., 2003). PG'ler, AA yolağı ürünleridir ve COX enzimi tarafından inflamasyon süresince üretilirler (Suleyman vd., 2007). COX enziminin, COX-1, COX-2 ve COX-3 izoformlarının olduğu bilinmektedir: COX-1, normal yapıdaki hücre ve dokuların çoğunda aktif olarak bulunur. COX-2 ise, dokularda proinflamatuvar ajanlar tarafından indüklenir (Krenzischek vd., 2008). Literatür verilerine göre karragenan ile oluşturulan arka ayak pençe ödem modelinde proinflamatuvar sitokin düzeylerini gösteren az sayıda çalışma mevcuttur. Ayrıca, bu modelde proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin dengesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, karragenan grubunda proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$).

Beşinci saatteki ölçüm sonuçlarına göre, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresi uygulanan grubun karragenan ile oluşturulan ödem miktarlarını kontrol grubu düzeyine getirerek ekstrenin antiinflamatuvar etkili olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). Altıncı saatte

yapılan ölçümlerde ise hem 250 mg/kg *V. exuberans* hem de 10 mg/kg indometazin gruplarının kontrol grubundan farklı olmadığı bulunmuştur ($p>0,05$). Dolayısıyla, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin pozitif kontrol olarak kullanılan indometazine göre antiinflamatuvar cevabı daha erken başlattığı hatta daha güçlü antiinflamatuvar etkisi olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca, *V. exuberans* ekstre grubunda TNF- α ve IL-1 β düzeyleri açısından değerlendirildiğinde ekstre grubunun antiinflamatuvar etkisine paralel bir şekilde azalma gözlenmiştir ($p<0,05$). Bulgularımız doğrultusunda, 250 mg/kg *V. exuberans* ekstresinin karragenan ile oluşturulan inflamasyona karşı indüklenen TNF- α ve IL-1 β düzeylerini azaltarak indometazine göre daha güçlü bir antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbas, A.B., 2009, "Innate Immunity", A.H. Lichtman (Ed.) Basic Immunology. Functions and disorders of the immune system (3rd ed.), Saunders (Elsevier) 978, 4682-4688 p.
- Aboutabl, E.A., Goneid, M.H., Soliman, S.N., Selim, A.A., 1999, Analysis of certain plant polysaccharides and study of their antihyperlipidemic activity, Al-Azhar J. Pharm. Sci., 24, 187-195.
- Afifi, S.A.M., Ahmed, M.M., Pezzuto, J.M., Kinghorst, A.D., 1993, Cytotoxic flavonolignans and flavones from *Verbascum sinaiticum* leaves, The International Journal of Plant Biochemistry 34(3), 839-841.
- Akdemir, Z., Tatli, İ.İ., Bedir, E., Khan, I.A., 2003, Antimicrobial and antimalarial activities of some endemic Turkish *Verbascum* species, Journal of Pharmaceutical Sciences (FABAD) 28(2), 131-135.
- Akdemir, Z., Kahraman, C., Tatli, I.I., Kupeli-Akkol, E., Suntar, I., Keles, H., 2011, Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory, antinociceptive and wound healer glycosides from the flowers of *Verbascum mucronatum* Lam., Journal of Ethnopharmacology 136(3), 436-443.
- Aktaş, K., Özdemir, B.A., 2013, *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. ve *V. splendidum* Boiss. Türleri Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Bir Araştırma, 2. Uluslararası Kazdağları ve Edremit Sempozyumu, 40 s.
- Albelda, S.M., Smith, C.W., Ward, P.A., 1994, Adhesion Molecules and Inflammatory Injury, Faseb J. 8(8), 504-512.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ali, N., Shah, S.W.A., Shah, I., Ahmed, G., Ghias, M., Khan, I., Ali, W., 2012, Anthelmintic and relaxant activities of *Verbascum thapsus* Mulllein, Complementary and Alternative Medicine 12, 29.
- Aliyiannis, N., Mitaku, S., Tsitsa-Tsardis, E., Harvala, C., Tsaknis, I., L alas, S., Haroutounian, S., 2003, Methanolic extract of *Verbascum macrurum* as a source of natural preservatives against oxidative rancidity, J. Agric. Food Chem. 51(25), 7308-7312.
- Amdekar, S., Roy, P., Singh, V., Kumar, A., Singh, R., Sharma, P., 2012, Anti-Inflammatory Activity of Lactobacillus on Carrageenan-Induced Paw Edema in Male Wistar Rats, International Journal of Inflammation 2012, 1-6.
- Amenta, R., Camarda, L., Di Stefano, V., Lentini, F., Venza, F., 2000, Traditional medicine as a source of new therapeutic agents against psoriasis, Fitoterapia 71, 13-20.
- Ardakani, Y.H., Rouini, M.R., 2009, Pharmacokinetic study of tramadol and its three metabolites in plasma, saliva and urine, Daru 17(4), 245-255.
- Arituluk, Z.C., Ezer, N., 2012, Halk Arasında Diyabete Karşı Kullanılan Bitkiler (Türkiye)-II, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 32(2), 179-208.
- Ariza, M.E., Williams, M.V., Wong, H.K., 2013, Targeting IL-17 in psoriasis: from cutaneous immunobiology to clinical application, Clin. Immunol. 146(2), 131-139.
- Arslan, H., Guleryuz, G., Leblebici, Z., Kirmizi, S., Aksoy, A., 2010, *Verbascum bombyciferum* Boiss. (Scrophulariaceae) as possible bioindicator for the assessment of heavy metals in the environment of Bursa, Turkey, Environ. Monit. Assess. 163(1-4), 105-113.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Aşık, İ., Çakar-Turhan, K.S., 2010, Travmada ağrı tedavisi, F. Tüzüner (Ed.), Anestezi yoğun bakım ağrı, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevi Sarayı, 1567-1580 s.
- Aşık, İ., 2010a, Kanser Ağrı Tedavisi, F. Tüzüner (Ed.), Anestezi yoğun bakım ağrı, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı, 1613-1635 s.
- Aşık, İ., 2010b, Ağrının Nörofizyolojisi, F. Tüzüner (Ed.) Anestezi yoğun bakım ağrı, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı, 1513-1522 s.
- Aşık, İ., 2012, Anatomi ve Nörofizyoloji, Y. Keçik (Ed.), Temel Anestezi, Ankara Güneş Tıp Kitabevleri, 381-394 s.
- Ateş, Y., Bilgin, B.A., Özgencil, G.E., 2010, Ağrı tedavisinde farmakolojik yaklaşım, F. Tüzüner (Ed.), Anestezi yoğun bakım ağrı, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı, 1775-1808 s.
- Attal., N., 2000, Chronic Neurpathic Pain: mechanisms and treatment, Clin. J. Pain 16(3), 118-130.
- Aydemir, T., 2007, Ağrı Sendromları, S. Erdine (Ed.), Ağrı 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 837-883 s.
- Aydın, N.O., 2002, Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 3(2), 37-48.
- Aytac, Z., Duman, H., 2012, *Verbascum hasbenlii* (Scrophulariaceae), a new species from Turkey, Turkish Journal of Botany 36, 322-327.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Bamigbade, T.A., Langford, R.M., 1998, The clinical use of tramadol hydrochloride, *Pain reviews* 5(3), 155-182.
- Bani, B., Adiguzel, N., Karaveliogullari, F.A., 2010, A new species (*Verbascum turcicum* sp. nov. (Scrophulariaceae) from South Anatolia, Turkey, *Annales Botanici Fennici* 47(6), 489-492.
- Barbour, E.K., Sharif, M.A., Sagherian, V.K., Habre, A.N., Talhouk, R.S., Talhouk, S.N., 2004, Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity, *Journal of Ethnopharmacology* 93(1), 1-7.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M.S., Brem, H., Tomic-Canic, M., 2008, Growth factors and cytokines in wound healing, *Wound Repair Regen* 16(5), 585-601.
- Barrot, M., 2012, Tests and models of nociception and pain in rodents, *Neuroscience* 211, 39-50.
- Baytop, T., 1999, Türkiye’de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri, 480 s.
- Bennett, M.I., Attal, N., Backonja, M.M., Baron, R., Bouhassira, D., Freynhagen, R., Scholz, J., Tölle, T.R., Wittchen, H.U., Jensen, T.S., 2007, Using screening tools to identify neuropathic pain, *Pain* 127(3), 199-203.
- Bhattacharjee, P., Hammond, B., Salmon, J.A., Stepney, R., Eakins, K.E., 1981, Chemotactic response to some arachidonic acid lipoxygenase products in the rabbit eye, *Eur. J. Pharmacol.* 73(1), 21-28.
- Bianchi, C., Franceschini, J., 1954, Experimental observations on Haffner’s method for testing analgesic drugs, *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 9(3), 280-284.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Bileviciute, I., Lundeberg, T., Ekblom, A., Theodorsson, E., 1993, Bilateral Changes of Substance-P-Like, Neurokinin-a-Like, Calcitonin Gene-Related Peptide-Like and Neuropeptide-Y-Like Immunoreactivity in Rat Knee-Joint Synovial-Fluid during Acute Monoarthritis, *Neuroscience Letters* 153(1), 37-40.
- Blank, M., Shiloh, Y., 2007, Programs for cell death: apoptosis is only one way to go, *Cell Cycle* 6(6), 686-695.
- Bozkurt, T.E., Tatlı, I.I., Kahraman, C., Akdemir, Z.S., Sahin-Erdemli, L., 2014, Inhibitory effect of the methanolic extract of *Verbascum latisepalum* Hub.-Mor. on endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta, *Z Naturforsch C.* 69(5-6), 219-225.
- Brenner, G.J., Woolf, C.J., 2008, Mechanisms of Chronic pain. D.E. Lognecker, D.L. Brown, M.F. Newman and W.M. Zapol (Eds.), *Anesthesiology USA: The McGraw-Hill Companies*, 2000-2020 p.
- Burke, A., Smyth, E., Fitz-Gerald, G.A., 2006, Analgesic-antipyretic agents: Pharmacotherapy of gout, L.L. Brunton (Ed.), *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 11th Edition. New-York, Mc Graw-Hill, 671-717 p.
- Casey, L.C., 2000, Immunologic response to infection and its role in septic shock, *Crit. Care Clin.* 16(2), 193-213.
- Cecen, O., Karaveliogullari F.A., Unal. A., 2015, *Verbascum misirdalianum* (Scrophulariaceae), a new species from central Anatolia, Turkey, *Phytotaxa* 217(1), 096-099.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Cooke, J.P., Dzau, V.J., 1997, Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease, *Annu. Rev. Med.* 48, 489-509.
- Cotran, R.S., Briscoe, D.M., 1997, Endotelial cells in inflammation, In *Textbook of Rheumatology* 5th ed., W., Kelly, vd (Eds). WB Saunders Publishing, Philadelphia, 183-198 p.
- Cotran, R.S., Kumar, V., Robbins, S.L., 2000, Inflammation and Repair. In: Robbins, *Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. WB Saunders, Philadelphia, 25-45 p.
- Cousins, M., Ower, I., 2006, Akut ve Postoperatif Ağrı, (Çev. K. Kesinbora, I. Aydın, S. Erdine) *Ağrı Tedavisi El Kitabı*, İstanbul Güneş Kitabevi, 13-30 s.
- Dajani, E.Z., Larsen, K.R., Taylor, J., Dajani, N.E., Shahwan, T.G., Neeleman, S.D., Taylor, M.S., Dayton, M.T., Mir, N.G., 1999, 10,10-Dimethylheptyl-D-8-tetrahydrocannabinol-11-oic acid: a novel, orally effective cannabinoid with analgesic and anti-inflammatory properties, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291(1), 31-38.
- D'Amour, F.E., Smith, D.L., 1941, A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 72(1), 74-79.
- Dane, F., Yılmaz. G., 2005, New Records for the Flora of European Turkey: *Verbascum roripifolium* and *V. ovalifolium* subsp. *thracicum* (Scrophulariaceae), *Bot. Chron.* 18(2), 11-16.
- Davis, P.H., Mill R.R., Tan, K., 1988, *Flora of Turkey and East Aegean Islands* Vol. 10. (Suppl 1). Edinburg: University Press.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Dimitrova, P., Kostadinova, E., Milanova, V., Alipieva, K., Georgiev, M., Ivanovska, N., 2012, Antiinflammatory Properties of Extracts and Compounds Isolated from *Verbascum xanthophoeniceum* Griseb, *Phytother. Res.* 26(11), 1681-1687.
- Dulger, B., Gonuz, A., 2004, Antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*, *Salvia*, and *Stachys* species, *Pharmaceutical Biology* 42(4-5), 301-304.
- Dulger, B., Ugurlu, E., 2005, Evaluation of antimicrobial activity of some endemic Scrophulariaceae members from Turkey, *Pharmaceutical Biology* 43(3), 275-279.
- Dulger, B., Ugurlu, E., Aki, C., Suerdem, T.B., Camdeviren, A., Tazeler, G., 2005, Evaluation of antimicrobial activity of some endemic *Verbascum*., *Sideritis*., and *Stachys*. species from Turkey, *Pharmaceutical Biology* 43(3), 270-274.
- Dulger, B., 2006, Antimicrobial activity of some endemic Scrophulariaceae from Turkey, *Pharmaceutical Biology* 44(9), 672-676.
- Dulger, B., Hacıoğlu, N., 2008a, Antimicrobial activity of some endemic *Verbascum* and *Scrophularia* species from Turkey, *Asian Journal of Chemistry* 20(5), 3779-3785.
- Dulger, B., Hacıoğlu, N., 2008b, Evaluation of antimicrobial activity of two endemic Scrophulariaceae members, *Asian Journal of Chemistry* 20(8), 6385-6390.
- Duthie, D.J., 1998, Remifentanil and tramadol, *Br. J. Anaesth.* 81(1), 51-57.
- Dray, A., Perkins, M., 1993, Bradykinin and Inflammatory Pain, *Trends Neurosci.* 16(3), 99-104.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Dworkin, R.H., 2002, An overview of Neuropathic Pain: Syndromes, Symptoms, Signs and Several Mechanisms, *The Clinical Journal of Pain* 18(6), 343-349.
- Eddy, N.B., Leimbach, D., 1953, Synthetic analgesics: II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 107(3), 385-393.
- Ekim, T., 2000, *Verbascum L.* A. Guner, N. Ozhatay, T. Ekim, K.H.C. Baser (Eds.). *Flora of Turkey and East Aegean Islands Vol. 11. (Suppl. 2)*. Edinburg: University Press. 193-194 p.
- Engul, M., Ogutcu, H., Adiguzel A., Sahin, F., Kara, A.A., Karaman, İ., Gulluce, M., 2005, Antimicrobial effects of *Verbascum georgicum* Bentham Extract, *Turkish Journal of Biology* 29(2), 105-110.
- Erdine, S., 2007, Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım, S. Erdine (Ed.), *Ağrı 3*. Baskı, İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri, 37-48 s.
- Erdine, S., 2010, Ağrı tarihi, F. Tüzüner (Ed.), *Anestezi yoğun bakım ağrı*, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitabevleri Sarayı, 1501-1512 s.
- Esener, Z., 1983, Ağrı, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi* 2, 191-202.
- Escobar, F.M., Sabini, M.C., Zanon, S.M., Tonn, C.E., Sabini, L.I., 2012, Antiviral effect and mode of action of methanolic extract of *Verbascum thapsus* L. on pseudorabies virus (strain RC/79), *Natural Product Research* 26(17), 1621-1625.
- Ferreira, S.H., Lorenzetti, B.B., Poole, S., 1993, Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia, *Br. J. Pharmacol.* 110(3), 1227-1231.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O.H., Andersen, P.S., Girardin, S.E., 2007, Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation, *Clin. Exp. Immunol.* 147(2), 227-235.
- Firat, M. 2015, *Verbascum kurdistanicum* (Scrophulariaceae), a new species from Hakkâri, Turkey, *PhytoKeys* 52, 89-94.
- Fundytus, M.E., 2001, Glutamate receptors and nociception: implications for the drug treatment of pain, *CNS drugs* 15(1), 29-58.
- Fung, H.B., Kirschenbaum, H.L., 1999, Selective cyclooxygenase-2 inhibitors for the treatment of arthritis, *Clinical Therapeutics* 21(7), 1131-1157.
- Garcia-Pastor, P., Randazzo, A., Gomez-Paloma, L., Alcaraz, M.J., Paya, M., 1999, Effects of petrosaspongiolide M, a novel phospholipase A2 inhibitor, on acute and chronic inflammation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 289(1), 166-172.
- Georgiev, M., Pastore, S., Lulli, D., Alipieva, K., Kostyuk, V., Potapovich, A., Panetta, M., Korkina, L., 2012, *Verbascum xanthophoeniceum*-derived phenylethanoid glycosides are potent inhibitors of inflammatory chemokines in dormant and interferon-gamma-stimulated human keratinocytes, *J. Ethnopharmacol.* 144(3), 754-760.
- Giordano, J., 2006, The neuroscience of pain and analgesia, M.V. Boswell and B.E. Cole (Eds.), *Weiner's pain management: a practical guide for clinicians*, 7th edition, Boca Raton, CRC Press Taylor and Francis Group, 15-35 p.
- Goldman, L., Schafer, A.I., 2012, "Mechanisms of inflammation and tissue repair" *Cecil Medicine: Expert Consult Premium Edition 24th Saunders (Elsevier)*, 1604-1607 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gökalp, O., Mollaoğlu, H., 2003, Uygunsuz ilaç kullanımı, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 10(2), 17-20.
- Graudins, A., Stearman, A., Chan, B., 1998, Treatment of the serotonin syndrome with cyproheptadine, J. Emerg. Med. 16(4), 615-619.
- Grigore, A., Colcure-Mihul, S., Litescu, S., Panteli, M., Rasit, I., 2013, Correlation between polyphenol content and anti-inflammatory activity of *Verbascum phlomoides* (mullein), Pharm. Biol. 51(7), 925-929.
- Griswold, D.E., Adams, J.L., 1996, Constitutive cyclooxygenase (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2): rationale for selective inhibition and progress to date, Med. Res. Rev. 16(2), 181-206.
- Guarino, C., 2002, Antimicrobial activity of *Verbascum macrurum* Ten. (Scrophulariaceae), Boll. Chim. Farm. 141(3), 238-242.
- Guay, J., Bateman, K., Gordon, R., Mancini, J., Riendeau, D., 2004, Carrageenan-induced paw edema in rat elicits a predominant prostaglandin E₂ (PGE₂) response in the central nervous system associated with the induction of microsomal PGE₂ synthase-1, J. Biol. Chem. 279(23), 24866-72.
- Gurbuz, İ., Ozkan, A.M., Yesilada, E., Kutsal, O., 2005, Antiulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pinarbasi (Kayseri, Turkey), Journal of Ethnopharmacology 101(1-3), 313-318.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 1996, Text Book of Medical Physiology (Çev. A. Arslan), Tıbbi Fizyoloji 9. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. İstanbul.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gürhan, G., Ezer, N., 2004, Halk Arasında Hemoroit Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 24(1), 37-55.
- Güç, D., 1998, Enflamasyon, Aktüel Tıp Dergisi 3, 126-130.
- Hall, J.M., 1992, Bradykinin receptors: pharmacological properties and biological roles, Pharmacol. Ther. 56(2), 131-190.
- Hargrove, V., Molina, D.K., 2009, A fatality due to cyproheptadine and citalopram, J. Anal. Toxicol. 33(8), 564-567.
- Hassoun, P.M., Mouthon, L., Barberà, J.A., 2009, Inflammation, growth factors, and pulmonary vascular remodeling, J. Am. Coll. Cardiol. 54(1), 10-19.
- Honda, Z., Ishii, S., Shimizu, T., 2002, Platelet-activating factor receptor, J. Biochem. 131(6), 773-779.
- Hubert-Morath, A., 1978, *Verbascum* L. P.H. Davis (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol. 6. Edinburg: University Press. 461-603 p.
- Ibuki, T., Matsumura, K., Yamazaki, Y., Nozaki, T., Tanaka, Y., Kobayashi, S., 2003, Cyclooxygenase-2 is induced in the endothelial cells throughout the central nervous system during carrageenan-induced hind paw inflammation; its possible role in hyperalgesia. J. Neurochem. 86(2), 318-328.
- Jay, G.W., 2007, Chronic Pain, New York: Informa Healthcare 1-12 p.
- Kahraman, C., Tatli, I.I., Orhan, I.E., Akdemir, Z.S., 2010, Cholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Verbascum mucronatum* Lam. and its secondary metabolites, Z. Naturforsch C. 65(11-12), 667-674.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kaileh, M., Berghe, W.V., Boonec, E., Essawi, T., Haegeman, G., 2007, Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity, *Journal of Ethnopharmacology* 113(3), 510-516.
- Kalinina, S.A., Elkina, O.V., Kalinin D.V., Syropyatov, B.Y., Dolzhenko, A.V., 2014, Diuretic activity and toxicity of some *Verbascum nigrum* extracts and fractions, *Pharm. Biol.* 52(2), 191-198.
- Karaveliogullari, F.A., Duran A., Hamzaoglu. E., 2004, *Verbascum tuna-ekimii* (Scrophulariaceae) a new species from Turkey, *Ann. Bot. Fennici* 41, 227-231.
- Karaveliogullari, F.A., Vural M., Polat, H., 2006, Two new taxa from Central Anatolia Turkey, *Isr. J. Bot.* 54(2), 105-111.
- Karaveliogullari, F.A., Aytac Z. 2008, Revision of the Genus *Verbascum* L. (Group A) in Turkey, *Botany Research Journal* 1(1), 9-32.
- Karaveliogullari, F.A., 2009, A New Record *Verbascum szovitsianum* Boiss. var. *szovitsianum* (Scrophulariaceae) from Turkey, *Biological Diversity and Conservation* 2(2), 68-70.
- Karaveliogullari, F.A., Ocak, A., Ekici, M., Cabi., E., 2009. *Verbascum eskisehirensis* sp. nov. (Scrophulariaceae) from central Anatolia, Turkey. *Nordic Journal of Botany* 27(3), 222-227.
- Karaveliogullari, F.A., Celik, S., Baser, B., Yavru, A., 2011, *Verbascum ergin-hamzaoglui* (Scrophulariaceae), a new species from South Anatolia, Turkey, *Turkish Journal of Botany* 35(3), 275-283.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kaya, G., 2010, Çocuklarda akut ağrı ve tedavisi, F. Tüzüner (Ed.), Anestezi yoğun bakım ağrı, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı 1747-1761 s.
- Kayaalp, S.O., Tuncer, M., 2005, Histamin ve Antihistaminikler In: Kayaalp SO, editor. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11. Baskı, Ankara, Hacettepe-Taş, 1239-1255 s.
- Kayhan, Z., 2004, Klinik Anestezi, 3. Baskı, İstanbul Logos Yayıncılık, 99-123 s.
- Kayhan, Z., 2007, Ağrı Fizyolojisi, Klinik Anestezi, 3. Baskı, İstanbul Logos Yayıncılık, 922-936 s.
- Kaynak, G., Daskin, R., Yılmaz, O., Erdogan. E., 2006, *Verbascum yurtkurianianum* (Scrophulariaceae), a new species from northwest Anatolia, Turkey, Ann. Bot. Fenn. 43, 456-459.
- Keating, S.M., Jacobs, E.S., Norris, P.J., 2012, Soluble mediators of inflammation in HIV and their implications for therapeutics and vaccine development, Cytokine Growth Factor Rev. 23(4-5), 193-206.
- Keskinbora, K., Aydın, I., 2006, Atipik opioid analjezik: tramadol, Ağrı 18(1), 5-19.
- Kettner, N.W., 2008, The functional neuroanatomy of pain perception, J.F. Audette, A. Bailey (Eds), Integrative pain medicine, New Jersey, Humana Press, 63-84 p.
- Khoshnoud, H., Nemati, N., Amirnia, R., Ghiyasi, M., Ghourttapeh, A.H., Tajbakhsh, M., Talati, F., Salehzadeh, H., 2008, Insecticidal properties of *Verbascum cheiranthifolium* against *R. dominica* on wheat and barley, Pakistan Journal of Biological Sciences 11(5), 783-787.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kilic, F.S., Dogan, A.E., Baydemir, C., Erol, K., 2011, The acute effects of mirtazapine on pain related behavior in healthy animals, *Neurosciences (Riyadh)*, 16(3), 217-223.
- Klimek, B., Stepien, H., 1994, Effect of some constituents of mullein (*Verbascum* sp.) on proliferation of rat splenocytes *in vitro*, *European J. Pharm. Sci.*, 2, 123.
- Kobaisy, M., Tellez, M.R., Schrader, K.K., Wedge, D.E., Sitpaeva, G.T., Gemejjeva, N.G., Mukanova, G.S., Mamonov, L.K., 2006, Phytotoxic, antialgal, and antifungal activity of constituents from selected plants of Kazakhstan, *ACS Symposium Series* 927(11), 142-151.
- Koçar, H., Halbant, S., Turan, M., 1997, Nonsteroid Antiinflamatuvar ilaçların klinik kullanımı, *Klinik Bilimler* 3(1), 28-46.
- Koster, R., Anderson, M., De-Beer, E.J., 1959, Acetic acid for analgesic screening, *Fed. Proc.* 18, 412-418.
- Kozan, E., Cankaya, I.T., Kahraman, Kahraman, C., Akkol, E.K., Akdemir, Z., 2011, The *in vivo* anthelmintic efficacy of some *Verbascum* species growing in Turkey, *Exp. Parasitol.* 129(2), 211-214.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., 2013, "Inflammation and repair" *Robbins Basic Pathology*, 9th Edition, Saunders (Elsevier) 43, 1781-1785 p.
- Kupeli, E., Tatlı, İ.İ., Akdemir, Z., Yesilada, E., 2007, Bioassayguided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive glycoterpenoids from the flowers of *Verbascum lasianthum* Boiss. Ex Benth., *Journal of Ethnopharmacology* 110(3), 444-450.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kupeli-Akkol, E., Tatlı, İ.İ., Akdemir, Z.. 2007, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of saponin and iridoid glycosides from *Verbascum pterocalycinum* var. *mutense* Hub.-Mor., Zeitschrift fuer Naturforschung C: Journal of Biosciences 62c, 813-820.
- Krenzischek, D.A., Dunwoody, C.J., Polomano, R.C., Rathmell, J.P., 2008, Pharmacotherapy for acute pain: Implications for practice, Pain Manag Nurs. 9(1), 22-32.
- Krushkov, I., Paskov, D., Popivanov, D., 1970, Ganglionblocking effect of some alkaloids of the plant *Verbascum nobile* Vel., Nauchni Tr. Vissh. Med. Inst. 49(4), 19-23.
- Lamont, L.A., Tranquilli, W.J., Grimm, K.A., 2000, Physiology of pain, Vet. Clin. North. Am. Exot Anim. Pract. 30(4), 703-728.
- Lee, S.B., Kaluri, R., 2010, Mechanistic connection between inflammation and fibrosis. Kidney Int. Suppl. 119, 22-26.
- Lin, L.T., Liu, L.T., Chiang, L.C., Lin, C.C., 2002, *In vitro* antihepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada, Phytother. Res., 16(5), 440-444.
- Loeser, J.D., Melzack, R., 1999, Pain: An overview, Lancet 353(9164), 1607-1609.
- Magiatis, P., Spanakis, D., Mitaku, S., Tsitsa, E., Mentis, A., Harvala, C., 2001, Verbalactone, a new macrocyclic dimer lactone from the roots of *Verbascum undulatum* with antibacterial activity, J. Nat. Prod. 64(8), 1093-1094.
- Maleki, N., Nayebi, A.M., Garjani, A., 2005, Effects of central and peripheral depletion of serotonergic system on carrageenan-induced paw oedema, Int. Immunopharmacol. 5(12), 1723-1730.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Malmsten, C.L., 1986, Prostaglandins, thromboxanes, and leukotrienes in inflammation, *Am. J. Med.* 80(4), 11-17.
- Marangoz, C., 1993, Ağrı ve Analjezinin Fizyolojik Temelleri, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi* 10(3), 93-109.
- Martinon, F., Mayor, A., Tschopp, J., 2009, The inflammasomes: guardians of the body, *Annu. Rev. Immunol.* 27, 229-265.
- Marcoccia, D., Georgiev, M.I., Alipieva, K.I., Lorenzetti, S., 2014, Inhibition of the DHT-induced PSA secretion by *Verbascum xanthophoeniceum* and *Serenoa repens* extracts in human LNCaP prostate epithelial cells, *Journal of Ethnopharmacology* 155(1), 616-625.
- Miclescu, A., Gordh, T., 2009, Nitric oxide and pain: “something old, something new”, *Acta Anaesthesiol. Scand.* 53(9), 1107-1120.
- Millan, M.J., 1997, The induction of pain: an integrative review, *Prog. Neurobiol.* 57(1), 1-164.
- Mills, K.H., Dungan, L.S., Jones, S.A., Harris, J., 2013, The role of inflammasome-derived IL-1 in driving IL-17 responses, *J. Leukoc. Biol.* 93(4), 489-497.
- Moein, S., Moein, M., Khoshnoud, M.J., Kalanteri, T., 2012, *In vitro* antioxidant properties evaluation of 10 Iranian medicinal plants by different methods, *Iran Red. Crescent. Med. J.* 14(12), 771-775.
- Moncada, S., Ferreira, S.H., Vane, J.R., 1973, Prostaglandins, Aspirin-Like Drugs and the Oedema of Inflammation, *Nature* 246, 217-218.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Montrucchio, G., Alloatti, G., Camussi, G., 2000, Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology, *Physiol. Rev.* 80(4), 1669-1699.
- Morgan, G.E., Mikhail, M.S., Murray, M.J., 2008a, Ağrı Tedavisi (Çev. M. Tulunay, H. Cuhruk), *Klinik Anesteziyoloji*, 4. Baskı, Ankara Güneş Kitabevi, 359-411 s.
- Morgan, G.E., Mikhail, M.S., Murray, M.J., 2008b, Nonvolatile anestezi ajanlar (Çev. M. Tulunay, H. Cuhruk), *Klinik anesteziyoloji* 4. Baskı, Ankara Güneş Kitabevi, 179-204 ve 276-288 s.
- Mothana, R.A., Abdo, S.A., Hasson, S., Althawab, F.M., Alaghbari, S.A., Lindequist, U., 2008, Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and phytochemical screening of some Yemeni medicinal plants, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 7(3), 323-330.
- Mothana, R.A.A., Abdo, S.A.A., Hasson, S., Althawab, F.M.N., Alaghbari, S.A.Z., Lindequist, U., 2010, Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants, *eCAM* 7(3), 323-330.
- Mothana, R.A., Al-Musayeb, N.M., Al-Ajmi, M.F., Cos, P., Maes, L., 2014, Evaluation of the *in vitro* antiplasmodial, antileishmanial, and antitrypanosomal activity of medicinal plants used in saudi and yemeni traditional medicine, *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2014, 1-7.
- Noble, F., Smadja, C., Roques, B.P., 1994, Role of endogenous cholecystokinin in the facilitation of mu-mediated antinociception by delta-opioid agonists, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 271(3), 1127-1134.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Nosalova, G., Sutovska, M., Mokry, J., Kardosova, A., Capek, P., Khan, M.T.H., 2005, Efficacy of herbal substances according to cough reflex, *Minerva Biotech.*, 17, 141-152.
- Ogonowski, A.A., May, S.W., Moore, A.B., Barrett, L.T., O'Bryant, C.L., Pollock, S.H., 1997, Antiinflammatory and Analgesic Activity of an Inhibitor of Neuropeptide Amidation, *J. Pharmacol Exp. Ther.* 280(2), 846-853.
- Oskay, E., Aksu, F., Cingi, M.I., Erol, K., Fidan, M., 1989, Analgesic and antiinflammatory effects of some benzanilides, *J. Pharm. Sci.* 78(6), 460-461.
- Ozcan, B., Esen, M., Caliskan, M., Mothana, R.A., Cihan, A.C., Yolcu, H., 2011, Antimicrobial and antioxidant activities of the various extracts of *Verbascum pinetorum* Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae), *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 15(8), 900-905.
- Ozhatay, N., Basak, N., Dalgic, G., Dane., F., 1996. Flowering Plants & Fern of European Turkey, İstanbul.
- Parolly, G., Tan, K., 2007, *Verbascum lindae* (Scrophulariaceae), a new species from SW Anatolia, *Willdenowia* 37(1), 277-282.
- Parolly, G., Eren, O., 2008, *Verbascum haraldi-adnani* (Scrophulariaceae), a new chasmo-phytic species from SW Anatolia, Turkey, *Willdenowia* 38, 127-134.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Raffa, B.B., Friderichs, E., Reimann, W., Shank, R.P., Codd, E.E., Vaught, J.L., 1992, Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an “atypical” opioid analgesic, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 260(1), 275-285.
- Raffa, R.B., Friderichs, E., Reimann, W., Shank, R.P., Codd, E.E., Vaught, J.L., Jacoby, H.I., Selve, N., 1993, Complementary and synergistic antinociceptive interactions between the enantiomers of tramadol, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 267(1), 331-340.
- Raffa, B.B., 2008, Basic pharmacology relevant to drug abuse assessment: tramadol as example, *J. Clin. Pharm. Ther.* 33(2), 101-108.
- Rajbhandari, M., Mentel, R., Jha, P.K., Chaudhary, R.P., Bhattarai, S., Gewali, M.B., Karmacharya, N., Hipper, M., Lindequist, U., 2009, Antiviral activity of some plants used in Nepalese traditional medicine, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 6(4), 517-522.
- Ramabadran, K., Jacob, J.J., 1982, Effects of various serotonergic agonists and an antagonist on a nociceptive reaction in mice, *Jpn. J. Pharmacol.* 32(6), 1059-1065.
- Ray, P.P., 2007, Ağrı taksonomisi, S. Erdine (Ed.) Ağrı, 3. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 19-26 s.
- Romero, A., Planas, E., Poveda, R., Sanchez, S., Pol, O., Puig, M.M., 2005, Anti-exudative effects of opioid receptor agonists in a rat model of carrageenan-induced acute inflammation of the paw, *Eur. J. Pharmacol.* 511(2-3), 207-217.
- Sarrell, E.M., Cohen, H.A., Kahan, E., 2003, Naturopathic treatment for ear pain in children, *Pediatrics*, 111 (5Pt1), 574-579.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Schaible, H.G., Richter, F., 2004, Pathophysiology of pain, *Langenbecks Arch Surg.* 389(4), 237-243.
- Senatore, F., Rigano, D., Formisano, C., Grassia, A., Basile, A., Sorbo, S., 2007, Phytogrowth-inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*, *Fitoterapia* 78(3), 244-247.
- Serhan, C.N., 2008, Controlling the resolution of acute inflammation: a new genus of dual anti-inflammatory and proresolving mediators, *J. Periodontol.* 79(8), 1520-1526.
- Sezik, E., Yesilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., 2001, Traditional medicine in Turkey X, Folk medicine in Central Anatolia, *Journal of Ethnopharmacology* 75(2-3), 95-115.
- Sharma, J.N., Buchanan, W.W., 1994, Pathogenic Responses of Bradykinin System in Chronic Inflammatory Rheumatoid Disease. *Exp. Toxicol. Pathol.* 46(6), 421-433.
- Sharma, J.N., Al-Omran, A., Parvathy, S.S., 2007, Role of nitric oxide in inflammatory diseases, *Inflammaopharmacology* 15(6), 252-259.
- Soares, A.C., Leite, R., Tatsuo, M.A., Duarte, I.D., 2000, Activation of ATP-sensitive K⁺ channels: mechanism of peripheral antinociceptive action of the nitric oxide donor, sodium nitroprusside, *Eur. J. Pharmacol.* 400(1), 67-71.
- Soares, A.C., Duarte, I.D., 2001, Dibutyryl-cyclic GMP induces peripheral antinociception via activation of ATP-sensitive K⁽⁺⁾ channels in the rat PGE₂-induced hyperalgesic paw, *Br. J. Pharmacol.* 134(1), 127-131.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Suleyman, H., Demircan, B., Karagoz, Y., 2007, Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors, *Pharmacol. Rep.* 59(3), 247-258.
- Suntar, I., Tatli, I.I., Kupeli-Akkol, E., Keles, H., Kahraman, C., Akdemir, Z., 2010, An ethnopharmacological study on *Verbascum* species: from conventional wound healing use to scientific verification, *Journal of Ethnopharmacology* 132(2), 408-413.
- Sutory, K. 2001, Two new hybrids of *Verbascum* from Turkey and Spain, *Bocconeia* 13, 457-460.
- Sutory, K. 2004, New hybrids of *Verbascum* (Scrophulariaceae) from Turkey, *Turk. J. Bot.* 28, 261-262.
- Steinmeyer, J., 2000, Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Arthritis Res.* 2, 379-385.
- Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., Gebre-Mariam, T., 2005, Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders, *Journal of Ethnopharmacology* 100(1-2), 168-175.
- Talib, W.H., Mahasneh, A.M., 2010a, Antimicrobial, cytotoxicity and phytochemical screening of Jordanian plants used in traditional medicine, *Molecules* 15(3), 1811-1824.
- Talib, W.H., Mahasneh, A.M., 2010b, Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine, *Sci. Pharm.* 78(1), 33-45.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Tatli, I.I., Akdemir, Z., Bedir, E., Khan, I.A.I., 2003, Search for antifungal compounds from some *Verbascum* species growing in Turkey, Turkish Journal of Chemistry 28, 137-140.
- Tatli, I.I., Akdemir, Z., 2005, Antimicrobial and antimalarial activities of secondary metabolites from some Turkish *Verbascum* species, Journal of Pharmaceutical Sciences (FABAD) 30(2), 84-92.
- Tatli, I.I., Akdemir, Z., 2006, Traditional Uses and Biological Activities of some *Verbascum* species, Journal of Pharmaceutical Sciences (FABAD) 31, 85-96.
- Tatli, I.I., Schuhly, W., Akdemir, Z., 2007a, Secondary metabolites from bioactive methanolic extract of *Verbascum pycnostachyum* Boiss. & Helder flowers, Hacettepe Universitesi Eczacılık Fakultesi Dergisi 27(1), 23-32.
- Tatli, I.I., Takamatsu, S., Khan, I.A., Akdemir, Z., 2007b. Screening for free radical scavenging and cell aggregation inhibitory activities by secondary metabolites from Turkish *Verbascum* species, Zeitschrift fuer Naturforschung, C.: Journal of Biosciences 62(9/10): 673-678.
- Tatli, I.I., Akdemir, Z., Yesilada, E., Kupeli, E., 2008a, Antiinflammatory and antinociceptive potential of major phenolics from *Verbascum salviifolium* Boiss., Zeitschrift fuer Naturforschung C: Journal of Biosciences 63(3/4), 196-202.
- Tatli, I.I., Kupeli-Akkol, E., Yesilada, E., Akdemir, Z., 2008b, Antinociceptive and anti-inflammatory activities of seven endemic *Verbascum* species growing in Turkey, Pharmaceutical Biology 46(10-11), 781-788.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Yumrutas, O., Sokmen, A., 2006, Screening of antioxidative properties of the methanolic extracts of *Pelargonium endlicherianum* Fenzl., *Verbascum wiedemannianum* Fisch. & Mey., *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Bentham) Borm., *Centaurea mucronifera* DC. and *Hieracium cappadocicum* Freyn from Turkish flora, Food Chemistry 98(1), 9-13.
- Tokunaga, A., Saika, M., Senba, E., 1998, 5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery, Pain 76(3), 349-355.
- Tuncer, M., 2005, Serotonin agonist ve antagonistleri, S.O. Kayaalp (Ed.) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11. Baskı, Ankara, Hacettepe-Taş, 1256-1264 s.
- Tuzlaci, E., Erol, M.K., 1999, Turkish folk medicines plants, Part II: Eğirdir (Isparta), Fitoterapia 70(6), 593-610.
- Turker, A.U., Camper, N.D., Gurel, E., 2004, High-performance liquid chromatographic determination of a saponin from *Verbascum thapsus* L., Biotechnology and Biotechnological Equipment 18(1), 54-59.
- Umer, S., Asres, K., Veeresham, C., 2010, Hepatoprotective activities of two Ethiopian medicinal plants, Pharm. Biol. 48(4), 461-468.
- Uyar, M., Eyigör, C., 2012, Kronik Ağrı Tedavisi, Y. Keçik (Ed.), Temel Anestezi, Ankara Güneş Kitabevleri, 1023-1034 s.
- Vane, J.R., Botting, R.M., 1997, Mechanism of action of aspirin-like drugs, Semin Arthritis Rheum. 26(6), 2-10.
- Vural, M., Aydogdu., M., 1993, A new species from central Anatolia *Verbascum gypsicola* (Scrophulariaceae), The Karaca Arboretum Magazine, 2(2), 75-78.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Wang, J., Hori, K., Ding, J., Huang, Y., Kwan, P., Ladak, A., Tredget, E.E., 2011, Toll-like receptors expressed by dermal fibroblasts contribute to hypertrophic scarring, *J. Cell Physiol.* 226(5), 1265-1273.
- Willis, W.D., Westlung, K.N., 1997, Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain, *J. Clin. Neurophysiol.* 14(1), 2-31.
- Wei, Y., Jinchuan, Y., Yi, L., Jun, W., Zhongqun, W., Cuiping W., 2013, Antiapoptotic and Proapoptotic Signaling of Cyclophilin A in Endothelial Cells, 36(3), 567-572.
- Yalcin I., Aksu, F., 2004, Involvement of potassium channels and nitric oxide in tramadol antinociception, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 80(2005), 69-75.
- Yılmaz, A., Ergin, S., 2006, Ağrı: periferel ve santral sensitizasyon, *Romatizma* 21, 105-110.
- Yılmaz, G., Dane. F., 2008, *Verbascum samniticum* Ten. (Scrophulariaceae), A new record for the flora of Turkey, *Turk. J. Bot.* 32, 411-414.
- Yücel, A., 2010, Nöropatik Ağrı, F. Tüzüner (Ed.), *Anestezi yoğun bakım ağrı*, Ankara MN Medikal ve Nobel Tıp Kitap Sarayı, 1711-1725 s.
- Zgorniak-Nowosielka, I., Grzybek, J., Manolova, N., Serkedjieva, J., Zawilinska, B., 1991, Antiviral activity of Flos verbasci infusion against influenza and Herpes simplex viruses, *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* 39(1-2), 103-108.
- Zhao, Y.L., Wang, S.F., Li, Y., He, Q.X., Liu, K.C., Yang, Y.P., Li, X.L., 2011, Isolation of chemical constituents from the aerial parts of *Verbascum thapsus* and their antiangiogenic and antiproliferative activities, *Arch. Pharm. Res.* 34(5), 703-707.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Zhang, Y., Shaffer, A., Portanova, J., Seibert, K., Isakson, P.C., 1997, Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E₂ production, J. Pharmacol. Exp. Ther. 283(3), 1069-1075.

EK AÇIKLAMALAR

Ek Açıklama: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu.



T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 21. 11. 2013
TOPLANTI SAYISI : 63
DOSYA KAYIT NUMARASI : 333-1
KARAR NUMARASI : 333-1
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Doç. Dr. Adnan AYHANCI
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Uzm. Bio. Esra EYİŞ
Öğr. Gör. Dr. Bilgin KAYGISIZ
Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ
✓ Swiss albino (64 adet erkek) Sprague
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI :
Dawley (40 adet erkek)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Doç. Dr. Adnan AYHANCI'nın araştırma yürütücüsü olduğu 333-1/2013 kayıt numaralı ve "Verbascum exuberans Hub.-Mor. türünün in vivo antinösetif ve antiinflatuvar etkinliklerinin araştırılması" konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması kabul edilerek onaylanmasına karar verilmiştir.

Prof. Dr. Keysel YEROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan Y. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Ömür ELÇİOĞLU (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)

Vet. Hek. Sümmarı DEMİRCI (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)

ÖZGEÇMİŞ

Adı, soyadı: Esra Eyiş

E-posta: esra.eyiis@gmail.com

Eğitim Bilgileri

- ❖ **Yüksek Lisans**, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.
- ❖ **Doktora**, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.

Yaptığı Tezler

- ❖ **Yüksek Lisans**, Burdur-Isparta Yöresinde Yayılış Gösteren *Lathyrus aphaca* var. *pseudoaphaca* (Boiss.) Davis, *L. cicera* L. ve *L. sphaericus* Retz. taksonlarının Antioksidan Etkilerinin Araştırılması (Proje No: BAP 0086-YL-09).
- ❖ **Doktora**, *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. Türünün *in vivo* Antinöroseptif ve Antiinflamatuar Etkilerinin Araştırılması (Proje No: BAP 2013-190).

Sertifika, Kurs ve Eğitimler

1. Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası, Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı, Isparta, Türkiye 13-17 Temmuz 2009.
2. Türkiye’de Kara Salyangozu Üretim, İşleme ve Pazarlama Yöntemleri, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, Türkiye 24-26 Aralık 2009.
3. Nörodejeneratif Hastalıkların Hayvan Modelleri, 26. Ulusal Biyofizik Kongresi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye 08 Eylül 2014.

4. Klinik Toksikoloji Kursu, Türk Farmakoloji Derneği, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 6-8 Nisan 2015.

Ulusal Kongre, Sempozyum, Panel Gibi Bilimsel Toplantılarda Sunularak, Programda Yer Alan, Özet Metin Olarak Yayımlanan Bildiri

1. Eyiiş, E., Karadeniz, A., Bazı *Lathyrus* L. Türlerinin Radikal Süpürücü Aktiviteleri. 19. BİHAT (Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı), 27-30 Ekim 2010, Mersin, Türkiye (Poster).
2. Eyiiş, E., Kinsiz, N., Emre, E., Heybeli, N., Ayhancı, A., Çelik, H.H., Sargon, M.F., Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hematotoksisitede *Salvia virgata*'nın Sitoprotektif Etkileri, V. MOKAD, 25-27 Nisan 2014, Bodrum, Türkiye, 182 s. (Poster)
3. Eyiiş, E., Kinsiz, N., Emre, E., Heybeli, N., Menteşe, A., Ayhancı, A., Çelik, H.H., Sargon, M.F., Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatotoksisitede *Salvia virgata*'nın Sitoprotektif Etkileri, V. MOKAD, 25-27 Nisan 2014, Bodrum, Türkiye, 183 s. (Poster)
4. Eyiiş, E., Emre, E., Kinsiz, N., Heybeli, N., Menteşe, A., Çelik, H.H., Sargon, M.F., Ayhancı, A., Sıçanlarda siklofosfamid nedenli ürotoksisitede *Salvia virgata*'nın sitoprotektif etkileri, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye, 687 s. (Poster)
5. Eyiiş, E., Emre, E., Kinsiz, N., Heybeli, N., Menteşe, A., Çelik, H.H., Sargon, M.F., Ayhancı, A., Sıçanlarda siklofosfamid nedenli kardiyotoksisitede *Salvia virgata*'nın sitoprotektif etkileri, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir, Türkiye, 730 s. (Poster)
6. Eyiiş, E., Kaygısız, B., Yılmaz, H., Kılıç, F.S., Ayhancı, A., *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. türünün antiinflamatuvar etkisi, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 7-10 Eylül 2015, Ankara, Türkiye, 188 s. (Poster)

7. Eyiş, E., Kaygısız, B., Yılmaz, H., Kılıç, F.S., Ayhancı, A., *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. türünün antinosiseptif etkisi ve bu etkide mekanizmaların incelenmesi, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 7-10 Eylül 2015, Ankara, Türkiye, 99 s. (Sözlü)

Ulusal Kongre, Sempozyum, Panel Gibi Bilimsel Toplantılarda Sunularak, Programda Yer Alan Poster Bildiri

1. Eyiş, E., Karadeniz, A., Genç, H., Erdoğan, N., Bazı *Lathyrus* L. türlerinin Radikal Süpürücü Aktiviteleri. Batı Akdeniz Doğa Bilimleri Sempozyumu, 4-6 Kasım 2010, Burdur, Türkiye, 124-125 s. (Poster)

Uluslararası Kongre, Sempozyum, Panel Gibi Bilimsel Toplantılarda Sunularak, Programda Yer Alan, Özet Metin Olarak Yayımlanan Bildiri

1. Ayhancı, A., Tekin, Y., Uyar, R., Sahinturk, V., Musmul, A., Ertekin, R., Gunes, S., Cetik, S., Eyiş, E., Demirkaya, M., Piyale, Y.M., Demirbas, B., Bilgetekin, Y., Can, I. Protective Effect of Carvacrol in Cyclophosphamide Induced Oxidative Injury in Rat Testis. The 2012 ASCB Annual Meeting, 15-19 December 2012, San Francisco, CA, USA, 260-261 p. (Poster)
2. Eyiş, E., Kaygısız, B., Yılmaz, H., Ayhancı, A., Kilic, F.S., The antinociceptive effects of *Verbascum exuberans* Hub.-Mor. The 17th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 13-18 July 2014, Cape Town, South Africa, 152 p. (Poster)

Burslar

1. 17th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 13-18 July 2014 Cape Town, South Africa (Nelson Mandela Bursu).