

FERULİK ASİTİN PERİFERİK ANALJEZİK ETKİSİ VE

OLASI MEKANİZMALARI

Yüksek Lisans Tezi

Merve KAŞIK

Eskişehir, 2019

**FERULİK ASİTİN PERİFERİK ANALJEZİK ETKİSİ VE
OLASI MEKANİZMALARI**

Merve KAŞIK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ocak, 2019

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1802S034 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

MERVE KASIK'nın "Ferulik Asitin Periferik
Analjezik Etkisi ve Obsü Mekanizması....." başlıklı
tezi 14.01/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca,
Farmakoloji..... Anabilim/Anasanat dalında Yüksek
Lisans/Doktora/Sanatta Yeterlik tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: <u>Doç. Dr. NURCAN BEKTAŞ TÜRKMEN</u>	
Üye	: <u>Doç. Dr. H. SİNEM BÜYÜKBAĞLAR</u>	
Üye	: <u>Doç. Dr. RANA ARSLAN</u>	
Üye	:	
Üye	:	

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU-KARABURUN
Müdür

ÖZET

FERULİK ASİTİN PERİFERİK ANALJEZİK ETKİSİ VE OLASI MEKANİZMALARI

Merve KAŞIK

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak 2019

Danışman: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Ferulik asit sınırlı sayıda çalışma ile analjezik etkisi ve etki mekanizması gösterilmiş biyoaktif bir fenoliktir. Tez çalışmasında ferulik asitin periferik analjezik etkinliğinin farelerde %0,6 asetik asit, *i.p.*, enjeksiyonu ile indüklenen kıvranma testinde değerlendirilmesi ve bu etkinlikte NO/sGMP/PKG/K_{ATP} yolağının rolünün araştırılması amaçlandı. Bu amaçla ferulik asitin 20, 40, 80 ve 160 mg/kg (*p.o.*) dozlarda oluşturduğu analjezik etki belirlendikten sonra etki mekanizmasının aydınlatılması için etkili bulunan dozda uygulanan ferulik asit öncesi ayrı ayrı, NO prekürsörü 100 mg/kg L-arjinin (*i.p.*), nitrik oksit sentaz inhibitörü 30 mg/kg L-NAME (*i.p.*), guanilat siklaz inhibitörü 20 mg/kg metilen mavisi (*i.p.*) ve K_{ATP} kanal blokörü 10 mg/kg glibenklamid (*i.p.*) kullanıldı. Kıvranma sayısındaki azalma analjezik aktivite olarak değerlendirildi. 40, 80 ve 160 mg/kg dozlarda ferulik asitin kıvranma sayılarını anlamlı olarak azalttığı gözlemlendi. 80 mg/kg ferulik asit ve 100 mg/kg asetil salisilik asitin birbirine yakın seviyelerde etkinlik gösterdiği belirlendi. 80 mg/kg ferulik asitin neden olduğu kıvranma sayısındaki azalmayı; L-arjinin ve metilen mavisi göreceli olarak geri çevirirken, L-NAME geri çevirememiştir. Glibenklamid ön-uygulaması ise ferulik asit ile indüklenen bu azalmayı anlamlı bir şekilde önlemiştir. Çalışma bulguları ferulik asitin periferik analjezik etkinliğe sahip olduğunu ve bu etkinliğe sGMP'nin kısmen fakat K_{ATP} kanalları aktivasyonunun primer olarak aracılık ettiğini göstermektedir. Sonuç olarak, ferulik asitin ağrı tedavisinde tek başına veya yardımcı ilaç olarak güvenle kullanılabilecek bir ajan olabileceğini söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Ferulik asit, Nitrik oksit, Guanilat siklaz, K_{ATP} kanalları, Ağrı.

ABSTRACT

PERIPHERAL ANALGESIC EFFECT AND POSSIBLE MECHANISMS OF FERULIC ACID

Merve KAŞIK

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences Institute, January 2019

Supervisor: Assoc Prof. Dr.Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

Ferulic acid is a bioactive phenolic with a limited number of studies showing the analgesic effect and mechanism of action. The aim of this study was to evaluate the peripheral analgesic efficacy of ferulic acid in the mice with writhing test induced by injection of 0,6% acetic acid, *i.p.*, and to investigate the role of the NO/cGMP/PKG/K_{ATP} pathway in this activity. For this purpose, after the determination of the analgesic effect of ferulic acid in 20, 40, 80 and 160 mg/kg (*p.o.*) doses, NO precursor 100 mg/kg L-arginine (*i.p.*), nitric oxide synthase inhibitor 30 mg/kg L-NAME (*i.p.*), guanylate cyclase inhibitor 20 mg/kg methylene blue (*i.p.*) and K_{ATP} channel blocker 10 mg/kg glibenclamide (*i.p.*) was used separately before the ferulic acid applied at the dose effective for clarifying the mechanism of action. Reduction in the number of writhes was evaluated as analgesic activity. At the 40, 80 and 160 mg/kg doses, ferulic acid significantly decreased writhing numbers. It was determined that 80 mg/kg ferulic acid and 100 mg/kg acetyl salicylic acid had similar activity at close levels. Reduction in the number of writhes caused by ferulic acid at 80 mg/kg; while L-arginine and methylene blue were relatively reversed, L-NAME could not reverse. Glibenclamide pre-treatment significantly inhibited this reduction induced by ferulic acid. The results of the study indicate that ferulic acid has peripheral analgesic activity and this activity is mediated partially by sGMP but primarily by activation of K_{ATP} channels. In conclusion, it is possible to say that ferulic acid can be an effective agent for the treatment of pain alone or as an adjuvant.

Keywords: Ferulic acid, Nitric oxide, Guanylate cyclase, K_{ATP} channels, Pain.

30/01/2019

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Merve KAŞIK

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde ve yüksek lisans eğitimim süresince, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kıymetli zamanını ayırıp büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını sunan, yanında çalışmaktan büyük bir onur ve keyif duyduğum, insani ve ahlaki değerleriyle örnek edindiğim ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken hoşgörü ve sabrını eksik etmeyen değerli tez danışmanım Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN'e içtenlikle teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitim dönemimde, katıldığım tüm deneyler ve çalışmalarım süresince bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bana destek olan, insani ve ahlaki değerlerini örnek edindiğim, hayat duruşuna her zaman hayran olduğum ve kendisiyle çalışma fırsatını bulduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Rana ARSLAN'a teşekkürlerimi borç bilirim.

Hiçbir fedakarlık ve özveriden kaçınmayıp her daim yanımda olduklarını hissettiren, karşılaştığım her türlü zorlukta güç aldığım, sevgi ve desteklerini eksik etmeyen, tüm yüksek lisans sürecim boyunca motivasyon kaynağım ve bu hayattaki en büyük şansım olan sevgili annem, babam ve kardeşime teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince motive olmamı sağlayan arkadaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ETİK ONAY BELGESİ	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Ağrı	3
2.1.1. Ağrının sınıflandırılması	4
2.2. Santral Ağrı Modülasyonu	5
2.3. Periferik Ağrı Modülasyonu	6
2.4. NO/cGMP/PKG/K _{ATP} Yolağı	8
2.5. Ağrının Tedavisi	10
2.5.1. Ağrının doğal tedavisi	11
2.6. Fenolik Bileşenler	12
2.6.1. Ferulik asit	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Kullanılan Sarf Malzemeleri	15
3.2. Deney Hayvanları	15

	<u>Sayfa</u>
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	15
3.4. Deneysel Yöntem	16
3.4.1. Asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi	16
3.5. İstatistiksel Analiz	16
4. BULGULAR VE TARTIşMA	17
4.1. Asetik Asit İle İndüklenen Kıvrınma Testi	17
4.2. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine L-arjinin/NO Yolağının Katkısı	18
4.3. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine sGMP Yolağının Katkısı	19
4.4. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine ATP-Bağımlı K ⁺ Kanalı Yolağının Katkısı	20
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	27
KAYNAKÇA	28
ÖZGEÇMİř	

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Ferulik asit ve ASA'nın asetik asitle indüklenen kıvranma sayısı üzerine % inhibisyonu	18

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Ferulik asitin kimyasal formülü	13
Şekil 4.1. 20, 40, 80 ve 160 mg/kg ferulik asitin ve 100 mg/kg ASA'nın kıvrınma testindeki analjezik etkisi	17
Şekil 4.2. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 100 mg/kg L-Arjinin ve 30 mg/kg L-NAME ön-uygulamasının etkisi ..	19
Şekil 4.3. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 20 mg/kg metilen mavisi ön-uygulamasının etkisi	20
Şekil 4.4. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 10 mg/kg glibenklamid ön-uygulamasının etkisi	21

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	: 5-Hidroksitriptamin
8-OH-DPAT	: (±)-8-hidroksi-2-(di-n-propilamino)tetralin
α	: Alfa
β	: Beta
ANOVA	: Analysis Of Variance
ASA	: Asetil Salisilik Asit
ASIC	: Acid Sensing İon Channels
ATP	: Adenosine Tri-Phosphate (Adenozin Tri Fosfat)
CCI	: Chronic Constriction Injury (Kronik Konstriksiyon Yaralanması)
CGRP	: Calcitonin Gene-Related Peptide (Kalsitonin Gen-İlişkili Peptid)
COX	: Siklooksijenaz
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDRF	: Endothelium-Derived Relaxing Factor (Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü)
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GABA	: γ -Aminobütrik Asit
GS	: Guanilat Siklaz
GTP	: Guanosine-5'-triphosphate (Guanozin trifosfat)
IASP	: International Association for the Study of Pain (Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği)
<i>i.p.</i>	: İntraperitoneal
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
K _{ATP}	: ATP-Bağımlı K ⁺ Kanalı
L-NMMA	: N ^G -monomethyl L-arginine
L-NAME	: N(G)-Nitro-L-arginine methyl ester

MB	: Methilen Blue (Metilen Mavisi)
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NSAİİ	: Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar
ODQ	: 1H-[1,2,4]oxadiazolo-[4, 3-a]quinoxalin-1-one
p	: Olasılık
PAG	: Periaquaduktal Gri Madde
PGE	: Prostaglandin E
PI3Kc	: Phosphoinositide 3-kinase
PKG	: Protein Kinaz G
<i>p.o.</i>	: Per Oral
R-PIA	: (-)-N ⁶ -(2-fenilizopropil)-adenozin
S.H.	: Standart Hata
sGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
SRT	: Spinoreticular Tract (Spino-Retiküler Yol)
STT	: Spinothalamic Tract (Spino-Talamik Yol)
TNF- α	: Tümör Nekrozu Faktörü-Alfa
TRP	: Transient Receptor Potential
TRPA	: Transient Receptor Potential Ankyrin
TRPM	: Transient Receptor Potential Melastatin
TRPV	: Transient Receptor Potential Vanilloid Receptor
VPL	: Ventral Posterolateral

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Uluslararası Ağrı Çalışmaları Birliği (IASP) tarafından 1979’da yayınlanan resmi tanımında; ağrının var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoş gitmeyen duysal ve emosyonel deneyim olduğundan bahsedilmektedir (Aydede, 2017). Günümüzde ağrı yönetimine artan dikkat, eş zamanlı olarak analjezik kullanımına bağlı daha fazla oranda yan etkiyi de beraberinde getirmektedir. Geniş bir kullanım alanı olsa da analjezikler güvenlik endişeleriyle ve yakın zamanda ortaya çıkan potansiyel riskleriyle dikkat çekmeye devam etmektedirler (Cazacu, 2015). Ağrı tedavisi için piyasada nonsteroidal antiinflatuvar ilaçlar, opioidler, trisiklik antidepresanlar ve antikonvülsanlar gibi birçok ilaç bulunsa da çoğu hasta mevcut ilaçların çeşitli yan etki ve tolerabilite problemlerinden dolayı tamamlayıcı veya alternatif tedavi olarak bitkisel tedaviye başvurmakta ve olumlu yanıt almaktadır (Zareba, 2009).

Bitkisel ilaçlar etkinlik ve güvenlik nedeniyle gelişmiş sağlık hizmetlerinde büyük bir talep görmektedir (Kamboj, 2000). Sentetik ilaçların ilaç endüstrisinde önemli payı olsa bile, doğal ilaç etken maddeleri ve bileşiklerden üretilen ilaçlar günümüzde kullanılan ilaçların neredeyse %50’sini oluşturmaktadır. Doğal kaynaklardan elde edilen ilaç hammaddeleri ve ilgili bileşikler arasında antibakteriyel, antikanser, antikoagülan, antiparazitik ve immunosupresan ajanlar tedavide kullanımda ilk sırada yer almaktadır. ABD’de reçete edilen 150 ilaçtan 84’ü doğal bileşik veya türevidir. Bu ilaçların ağırlıklı antialerjik ve solunum yolları ilaçları, analjezikler, kardiyovasküler ilaçlar ve antiinfektif ajanlar olduğu görülmektedir (Harput, 2010). Son yıllarda, bitkilerde doğal olarak bulunan ferulik asit biyoaktif bir molekül olması nedeniyle dikkat çekmektedir. Güçlü bir antioksidan olan ferulik asitin insan sağlığını olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Bazı deneysel çalışmalarda ferulik asitin analjezik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak etki mekanizması hakkındaki veriler sınırlı sayıdadır (Srinivasan ve diğ., 2007; Zhang, 2010).

Analjezi kontrolü santral ve periferik düzeyde bir çok nörokimyasal sürecin yer aldığı kompleks bir süreçtir (Vanegas ve diğ., 2010; Sommer, 2010). Mevcut analjezikler ile yaşanan etkinlik ve güvenlik problemleri, araştırmacıları ağrı kontrol sürecinde rol oynayan diğer sistemleri hedef alan ilaçların geliştirilmesine yönlendirmektedir. Bu bağlamda dikkat çeken yollardan bir tanesi de L-

arjinin/NO(nitrik oksit)/sGMP(siklik guanozin monofosfat)/ATP'ye duyarlı K⁺ kanalı yolağıdır. Bu yolak, NO aracılığı ile sGMP oluşumu ve bunu takiben PKG (Proteinkinaz G)'nin aktivasyonu ile ATP'ye duyarlı K⁺ kanallarının fosforile olması ile etki göstermektedir. Böylece nosiseptif bilgi aktarımının azalması ile antinosiseptif etki elde edilerek ağrı baskılanmaktadır (Staurengo-Ferrari ve diğ., 2014). Bu tez çalışmasında, farelerde 20, 40, 80, 160 mg/kg dozlarda oral uygulanan ferulik asitin asetik asit ile indüklenen kıvrınma testinde periferik analjezik etkinliğinin değerlendirilmesi ve gözlenen antinosiseptif etkinliğine NO/sGMP/PKG/K_{ATP} kanalı yolağının katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Ağrı

IASP'e göre ağrı; “mevcut ya da potansiyel doku hasarı ile ilişkili olarak tarif edilen hoş olmayan duyusal ve duygusal bir deneyimdir” (Merskey ve Bogduk, 1994). Tüm insanlar ve hayvanların çoğu yüksek eşiğe sahip özel reseptörlere sahiptirler ve sadece doku hasarının sebep olduğu veya olabileceği uyaranlar tarafından uyarılabilirler (Schmidt, 1986). Ağrı, gerçek veya olası doku hasarını saptamak için uzmanlaşmış bu duyusal reseptörlerin aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Ossipov ve diğ., 2010). Bu reseptörlere “nosiseptör” denmektedir. İnsanlarda bu reseptörlerin uyarılması olağan olarak acıya neden olur ki bu da vücudun dışarıdan (örn., ısı) veya dahili olarak (örn., iltihap) kaynaklanan uyaranlar tarafından tehlikeye girdiğine işaret etmektedir. Zararlı sinyallerin alınması, iletimi ve santral sinir sisteminde algılanması “nosisepsiyon” olarak adlandırılmakta ve bu olayda yer alan nöral yapılar “nosiseptif sistem”i oluşturmaktadır (Schmidt, 1986). Nosisepsiyon, doku hasarı ile ağrının algılanması arasında oluşan karmaşık elektrokimyasal olaylar serisinin bütünüdür. Ağrı, nosisepsiyon içinde bir algılama olayıdır. Travmatik veya zararlı uyarana nöral cevaptır. Tüm nosiseptör uyarılar ağrı oluşturur, fakat tüm ağrılar nosisepsiyondan kaynaklanmaz (Aydın, 2002). Ağrı bilincin mutlak bir fonksiyonudur, nosisepsiyon ise değildir. Ağrı, sinir sisteminde değişikliklere neden olmamasına rağmen, “fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme” üzerindeki kortikal değişiklikler gibi çeşitli süreçlerin ağrı ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Visser ve Davies, 2009). Ağrı sinyallerinin işlenmesi ve yorumlanması, periferik sinirlerin uyarılmasını, spinal dorsal boynuz içindeki lokal etkileşimleri ve spinal korddan supraspinal yapılara uzanan bir döngüyü oluşturan inisiyasyon ve çıkıcı sistemlerin aktivasyonunu gerektiren ve son olarak spinal düzeyde uyarıcı nosiseptif girdiler içeren oldukça karmaşık bir süreçtir (Vanderah, 2007). Bununla birlikte, nosiseptörlerin aktivasyonu ile ağrının duyusal deneyimi arasında her zaman belirgin bir doğrudan ilişki yoktur. Yaralanma şiddetinin benzer olduğu durumlarda bile, bireysel ağrı deneyimleri değişiklik gösterebilmektedir. Duygusal durum, kaygı derecesi, dikkat ve dikkat dağınıklığı, geçmiş deneyimler, hatıralar ve daha birçok faktör ağrı deneyimini artırabilmekte veya azaltabilmektedir (Ossipov ve diğ., 2010).

2.1.1. Ağrının sınıflandırılması

Ağrı birçok farklı şekilde sınıflandırılabilir. Fonksiyonel (fizyolojik ağrı, patolojik ağrı), etiyolojik, patofizyolojik, anatomik olarak (nosiseptif ağrı, nöropatik ağrı, visseral ağrı, somatik ağrı v.s.), ve ağrının süresine göre (akut, kronik v.s.) göre sınıflandırmalar mevcuttur (Visser ve Davies, 2009). IASP Taksonomi Alt Komitesi ise ağrıyı beş eksenli taksonomi şeklinde, eksen bazında tanımlamıştır. Bu tanımlamaya göre; 1. eksen ağrının yer aldığı vücut bölgesi ile ilgilidir. 2. eksen ağrının etkilediği sistemleri, 3. eksen oluşum süresini ele almaktadır. 4. eksen, hastanın ifadesine göre ağrının şiddeti ve başladığından bu yana geçen süreyi, 5. eksen ise ağrının etiyolojisini belirtmektedir (Aydın, 2002).

Akut ağrı, spesifik bir hastalık veya yaralanma ile meydana gelmektedir. Yararlı bir biyolojik amaca hizmet etmekle birlikte kendi kendini sınırlamaktadır. Ayrıca iskelet kası spazmı ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile ilişkilidir. Kronik ağrı ise bir hastalık durumu olarak düşünülebilir. Bir hastalık veya yaralanma ile ilişkiliyse de, normal iyileşme süresinden daha uzun süren bir ağrıdır. Kronik ağrı psikolojik durumlardan kaynaklanabilir, biyolojik bir amaca hizmet etmez ve tanımlanabilir bir bitiş noktasına sahip değildir. Akut ağrının tedavisi, altta yatan nedenin tedavi edilmesini ve nosiseptif sinyallerin kesilmesini amaçlamaktadır. Kronik ağrının tedavisi ise multidisipliner bir yaklaşıma dayanmalı ve birden fazla terapötik yöntem içermelidir (Grichnik ve Ferrante, 1991).

Kronik ağrı, altta yatan hastalık tarafından somatosensoriyel sinir sisteminin bütünlüğünün bozulup bozulmadığına bağlı olarak nosiseptif veya nöropatik olarak sınıflandırılmaktadır. Nosiseptif ağrı, zararlı uyaranlara duyarlı reseptörlerin (nosiseptörler) aktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu uyaranlara uzun süreli veya yoğun maruziyet, örneğin, iltihaplanma sırasında açığa çıkan kimyasal mediyatörler, nosiseptif sinir liflerinin tepkisini arttırmaktadır (Scholz, 2014). Çeşitli merkezi ve periferik sinir bozukluklarının neden olduğu nöropatik ağrı, şiddeti, kronikliği ve basit analjeziklere karşı direnci nedeniyle problemlidir. Servikal veya lomber radikülopati, diyabetik nöropati, kansere bağlı nöropatik ağrı, postherpetik nevralji, HIV ile ilişkili nöropati, omurilik hasarı, trigeminal nevralji gibi beyin, omurilik ve periferik sinirleri etkileyen çeşitli nedenlerden kaynaklanabilmektedir (Gilron ve diğ., 2006). Pozitif belirtileri tipik olarak, karıncalanma, yanma veya elektrik çarpması hissi olarak tanımlanan acı veren duyumlardır. Negatif semptomlar duyu fonksiyon kaybı

nedeniyle azalmış duyu hissiyatı olarak tanımlanmaktadır. Hastalar ayrıca allodini (genellikle ağrıya neden olmayan bir uyarının neden olduğu ağrı), hiperaljezi (ağrıya aşırı duyarlı olma) ve anestezi dolorosa (anestetik veya uyuşuk bir bölgede ağrı) yaşamaktadır (Brooks ve Kessler, 2017). Nöropatik ve nörojenik ağrı karıştırılmamalıdır. Nörojenik ağrı, herhangi bir nöropati oluşturma şartı aranmaksızın periferel sinir yaralanması ile ortaya çıkan ağrıdır (Aydın, 2002).

Somatik ağrı somatik sinirlerden kaynaklanan, ani başlayan, keskin, iyi lokalize olmuş ağrıdır (Aydın, 2002). Somatik ağrı genellikle eklem yaralanması veya artritlik durumlarla ilgilidir. Kas ağrısı da somatik bir ağrıdır ve fibromiyalji de dahil olmak üzere bazı kronik durumların bir parçası olarak gelişebilmektedir (http-1). Visseral ağrı ise, iç torasik, pelvik veya abdominal organlardan kaynaklanan ağrı olarak tanımlanmaktadır. Somatik ağrıdan farklı olarak, visseral ağrı genellikle belirsiz, kötü lokalize ve organ distansiyonu gibi bir uyarana karşı aşırı duyarlılık ile karakterizedir (Johnson ve Meerveld, 2016).

2.2. Santral Ağrı Modülasyonu

Spinal kord, periferden gelen ağrı sinyallerini çıkan yollar vasıtasıyla üst merkezlere iletmektedir. Kortekse ulaşan bu sinyaller, üst merkezlerde değerlendirildikten sonra beyin sapı yoluyla spinal korda geri dönerek ağrıyı kontrol eden inisi yolakları oluşturmaktadır (Uyar ve Köken, 2017). Nosiseptif sinyalleri beyinde daha yüksek merkezlere taşıyan çıkıcı sistemler; spino-talamik yol (STT), spino-retiküler yol (SRT), spino-mezensefalik yol, spino-tektal yol ve spino-hipotalamik yoldur (Patestas ve Gartner, 2006). Lamina I, V ve VII'den köken alan spino-talamik yol lateral talamokortikal sistemin bir parçası olan ve duyuusal uyarının kodlanmasında rol oynayan talamik ventral posteriorlateral (VPL) çekirdeğinde sonlanarak ağrı lokalizasyonu için önemli olan sinyalleri iletmektedir. Spino-retiküler yol hücreleri ise ağrının emosyonal yönleriyle ilgilidir. Spino-mezensefalik yol nöronları ise Lamina I, IV, V, VII ve VIII'de konumlanmıştır (Schaible, 2006; Reddi ve diğ., 2013). Bu yol limbik sistemle olan bağlantıları nedeniyle ağrının emosyonel bileşiminde rol oynamaktadır (Patestas ve Gartner, 2006).

Orta beyindeki periakvaduktal gri madde (PAG) ve rostral ventromedial medulla (RVM) inisi inhibitör modülasyonda yer alan, beyinin iki önemli alanıdır. Her iki

merkez de opioidlerin neden analjezik etkili olduğunu açıklamaya yardımcı olacak şekilde yüksek konsantrasyonlarda opioid reseptörü ve endojen opioid içermektedir. İnici yollar dorsal boynuza doğru uzanmakta ve ağrı iletimini engellemektedir (Reddi ve diğ., 2013). İnici yollar, noradrenalin, serotonin ve dopamin gibi monoaminleri yoğun olarak kullandığı için monoaminerjik yolak olarak da isimlendirilmektedir. Fakat bu yollar sadece ağrıyı azaltan özellikte olmayıp ağrıyı reseptör alt tipi ve baskın monoamin tipine göre arttırabilmektedir (Uyar ve Köken, 2017).

2.3. Periferal Ağrı Modülasyonu

Periferal ağrı, deride, eklemlerde, iç organlarda ve kaslarda bulunan ve nosiseptif bilgiyi iletmekten sorumlu olan nosiseptörlerin uyarılması ile başlamaktadır. Aşırı sıcaklık ve yüksek basınç ile de aktive olabilen nosiseptörler, doku hasarı gibi belli nedenlere bağlı olarak açığa çıkan globulin ve protein kinazlar, araşidonik asit, histamin, sinir büyüme faktörü, P maddesi, kalsitonin gen-ilişkili peptid (CGRP), potasyum, serotonin, asetilkolin, düşük pH solüsyonları, laktik asit, ATP ve NO de dahil olmak üzere çok çeşitli kimyasal maddeler ile de aktive olmaktadır. Ağrıyı başlatan nosiseptörler aslında, sinir uçlarında kılıfsız olan ancak Schwann hücreleri tarafından çevrelenmiş primer nöronun dalları olan serbest sinir uçlarıdır (http-2; Kidd ve Urban, 2001). Omurilikte, bu primer duyusal sinirler, aminoasitler (glutamat) ve nöropeptidler (P maddesi ve CGRP gibi) gibi nöro-ileticileri salgılayarak ikinci dereceden nöronları aktive etmektedirler. İkinci dereceden nöronlar, ağrı hissinin olduğu talamusa ulaşan spesifik yollar aracılığıyla bilgiyi aktarmaktadır. Talamustan somatosensoriyel kortekse doğru giden üçüncü dereceden nöronlar aktive olarak ağrı algısı oluşmaktadır (Cury ve diğ., 2011).

Kısaca ağrının periferik iletimi, sinir uçlarında (transdüksiyon) elektrik sinyallerinin üretilmesini ve ardından bu sinyallerin periferal sinir sistemi (transmisyon) yoluyla yayılmasını içermektedir (Venugopal ve Swamy, 2005). Ağrı transdüksiyonu nosiseptif bir uyarının, iletilebilir nöroelektrik sinyaline dönüşmesidir. Ağrı transdüksiyonunun genel mekanizması, özel transdüksiyon kanalları [örneğin, transient receptor potential (TRP)] ile çeşitli iyon kanallarının aktivasyonunu içermektedir. İyon kanalının açılması iyon akışına, membran depolarizasyonuna ve bir nosiseptif sinyalin oluşumuna yol açmaktadır. Vücudun nosiseptif uyarıların transdüksiyon kabiliyetinin

altında yatan çeşitli transdüksiyon yolları vardır. Bunlardan en önemlileri voltaj kapılı sodyum kanalları, asit algılama iyon kanalları (acid sensing ion channels = ASIC's) ve TRP kanallarıdır (McEntire ve diğ., 2016). Asit algılama iyon kanalları düşük pH ile açılan Na^+ kanallarıdır (Schaible, 2006). Non-selektif katyon kanalları olan TRP kanalları, bir dizi fizyolojik sürece dahil olan ve nosiseptif transdüksiyon sürecinde özellikle önemli olan geniş bir kanal ailesidir. TRPV1, TRPA1, TRPV3 ve TRPM8 gibi çeşitli alt tipleri mevcuttur. Voltaj kapılı sodyum kanalları ise, nosiseptif uyaranların transdüksiyonu dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte önemli bir rol oynayan kanallardır (McEntire ve diğ., 2016).

Ağrı transmisyonunda görevli A-delta lifi ve C lifi olmak üzere iki ana tip nosiseptif sinir lifi vardır. Bu primer afferent sinir lifleri, ya dorsal kök ganglionları ya da trigeminal gangliyonda hücre gövdelerine sahiptir ve omuriliğin dorsal boynuzunda sonlanmaktadır. Tüm ağrı lifleri dorsal boynuzda son bulsa da, bu son noktaya giden rotaları değişiklik göstermektedir (Steeds, 2009). A-delta lifleri miyelinlidir ve vücudun ağrı mevcudiyetine karşı uyarılmasını sağlayan küçük alıcı alanlara sahiptir (http-2). A-delta liflerinin uçları genellikle uyarıldıkları tipe göre termal veya mekanik nosiseptörler adını almakta ve 30 m/sn hızda ileti oluşturmaktadırlar. Dolayısıyla bu nosiseptörlerin aktivasyonu keskin, iğneleyici ve iyi lokalize edilen bir ağrı oluşturmaktadır (Aydın, 2002). C liflerine kıyasla daha yüksek derecede miyelinasıyona bağlı olarak, bu lifler başlangıçtaki ağrı algısından sorumludur. Öte yandan C lifleri, miyelinsizdir ve ağrının yoğunluğunu iletmelerine izin veren geniş alıcı alanlara sahiptir (http-2). C liflerinin uçları polimodal nosiseptör adını almakta ve şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı sıcak ve soğuk uyaranlarla aktive olmaktadır. C lifleri, inflamasyonda olduğu gibi gecikmiş, yanıcı ve inatçı karakterdeki ağrıdan sorumludur (Aydın, 2002). Her 2 lif grubu da omuriliğin dorsal boynuzunda son bulmaktadır (Venugopal ve Swamy, 2005). Nosiseptörler ve onların nöronları tekrarlanan stimülasyon sonrasında periferik duyarlılaşma meydana getirmektedir (Venugopal ve Swamy, 2005). Nosiseptörlerin duyarlılaşması, iyon (K^+ , H^+), bradikinin, prostaglandinler, histamin, 5-hidroksitriptamin (5-HT), ATP ve NO de dahil olmak üzere hasarlı hücrelerden inflamatuvar mediyatörlerin salınmasıyla gerçekleşmektedir. Bu araçların bazıları periferik nosiseptörleri doğrudan harekete geçirmekte ve spontan ağrıya yol açmaktadır. Diğerleri ise ayrıca algojenik ajanların (ağrıya yol açan madde) salgılanmasını uyarmak için inflamatuvar hücreler yoluyla dolaylı olarak hareket etmektedir (Kidd ve Urban,

2001). Ayrıca, duyarlı hale gelen nosiseptör uçlardan da nöropeptidler çevre dokuya salgılanmaktadır. Özellikle P maddesi, nörokinin A ve CGRP gibi taşıyıcılar bölgede ödem ve yangının başlamasına yol açmaktadır (Aydın, 2002).

2.4. NO/sGMP/PKG/K_{ATP} Yolu

15-20 yıl öncesine kadar NO'nun basit bir atmosfer atığı olduğu düşünölmekteydi. Ancak 1987 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapının izole edilmesi sırasında NO sentaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu tespit edilmiştir. İnsan ve hayvanların da NO üretebildiklerinin ortaya konması ile 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunuş nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO'nun fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmış ve 1992'de yılın molekölü seçilmiştir (Türköz ve Özerol, 1997). NO, çok çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleköler süreçleri düzenleyen önemli bir sinyal molekölü olarak bilinmektedir. Hem merkezi sinir sisteminde hem de periferde sinaptik iletimde önemli bir role sahiptir (Florentino ve diğ., 2015). NO, ağrı modölasyonunda da karmaşık ve çeşitli rollere sahiptir (Cury ve diğ., 2011). NO'nun nosiseptif sistemde ikili bir rol oynadığı bilinmektedir. Nosiseptif sistemin seviyesine (periferel, merkezi), hedef dokuya, hayvan ağrı modeline ve konsantrasyonuna göre ağrıyı indükleme veya azaltma özelliğine sahiptir (Parvardeh ve diğ., 2018).

NO'nun sentezine, L-arjininini L-sitrulin ve NO'e enzimatik olarak dönüştüren farklı nitrik oksit sentaz (NOS) izoformları aracılık etmektedir (Florentino ve diğ., 2015). NOS'nun nöronal (nNOS), endotelyal (eNOS) ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olmak üzere 3 izoformu bulunmaktadır (Janicki ve Jeske-Janisca, 1998). NOS'nun farklı izoformlarından türeyen NO'nun periferel nosisepsiyonda anahtar bir mediyatör olarak rol oynadığı farklı deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Periferdeki NO ve sitokinler arasında büyük bir etkileşim vardır ve inflamatuvar ağrı modölasyonunda NO ve sitokinler arasında bir feedback döngüsü mevcuttur (Cury ve diğ., 2011). Ayrıca NOS ve COX sistemlerinin varlığında artmış inflamasyon yanıtı ile sonuçlanabilen proinflamatuvar prostaglandin üretiminde NO-aracılı artış olduğu bilinmektedir (Salvemini ve diğ., 1993). Periferel nosiseptörlerde zararlı uyaran hissi uyandıran iki polimodal iyon kanalı olan TRPV1 ve TRPA1'in NO tarafından aktivasyonunun araştırıldığı bir çalışmada NO donörlerinin bu kanalları doğrudan aktive edebildiği

gösterilmiştir ve dolayısıyla NO'nin periferik nosiseptif etkisine hem TRPV1 hem de TRPA1 aracılık ettiği kanıtlanmıştır (Miyamoto ve diğ., 2009). Bununla birlikte NO'nin MSS'nde de ağrı oluşumuna aracılık ettiği bilinmektedir. Deneysel kanıtlar, merkezi sinir sisteminde üretilen endojen NO'nin, esas olarak spinal ve supraspinal düzeylerde, nosiseptif bir mediyatör olarak davranmasıyla ağrı oluşumunu gerçekleştirmekte olduğunu göstermektedir. Ayrıca, birçok veri merkezi bölgelerdeki NO seviyelerindeki artışın morfin antinosisepsiyonunu azalttığını, bununla birlikte seviyelerindeki azalmanın da opioidin analjezik etkisini arttırdığını göstermiştir (Cury ve diğ., 2011).

Ayrıca bu nörotransmitterin MSS'nde inici inhibitör sistemlere katılımının olduğu ve nosisepsiyonun yanı sıra farklı antinosiseptif ajanlarla beraber antinosisepsiyona katıldığı rapor edilmektedir (Cury ve diğ., 2011; Galdino ve diğ., 2015). NO, inici inhibisyon yollarında rol oynayan noradrenerjik ve kolinerjik mekanizmalar ile etkileşmekte ve omuriliğin dorsal boynuzunda antinosisepsiyonun indüksiyonunda rol oynamaktadır (Cury ve diğ., 2011). Ayrıca, asetilkolinin analjezik etkisine NO salınımının aracılık edip etmediğinin araştırıldığı bir çalışmada sıçan pençe hiperalejisi çalışılmış ve asetilkolin tarafından indüklenen analjezinin L-NMMA (NOS inhibitörü), metilen mavisi (guanilat siklaz inhibitörü) ve MY 5445 (sGMP fosfodiesteraz inhibitörü) kullanımı ile inhibe edildiği gözlemlenmiştir. NO'nin buradaki analjezik etkinliğinin NO-sGMP sinyal yoluna bağlı olduğu ve asetilkolinin indüklediği analjeziye NO salınımının aracılık ettiği gösterilmiştir (Durante ve diğ., 1990). Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda morfinin santral analjezik etkisine NO katkısının olduğu, μ -opioid reseptör aktivasyonu sonucu harekete geçen PI3K/AKT yolunun bu katkıya aracılık ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PI3K/AKT yolu nNOS'u uyarmakta ve sentezlenen NO, K_{ATP} kanallarının aktivasyonuna neden olarak nosiseptif nöronlarda hiperpolarizasyon meydana getirmektedir (Cunha ve diğ., 2010). Şöyle ki; NOS'ın prekürsörü olan L-arjininden sentezlenen NO'nin çözünebilir guanilat siklazı aktive etmesi üzerine sGMP konsantrasyonu artmakta, artan sGMP'nin PKG aktivasyonuna yol açması üzerine K_{ATP} kanalları fosforile olmakta ve açılmaktadır. K_{ATP} kanallarının açılması membran hiperpolarizasyonunu indüklemekte, böylelikle nöronların depolarizasyonunu ve aksiyon potansiyeli iletim yeteneklerini azaltmaktadır. Tüm bu olaylar da analjezinin indüklenmesine yol açmaktadır (Staurengo-Ferrari ve diğ., 2014; Mansouri ve diğ., 2013). Opioidler, diklofenak, dipiron gibi NSAİİ'ler, α_2 -adrenoseptör agonisti ksilazin gibi çeşitli ilaçların ve bazı doğal ürünlerin periferik antinosiseptif

etkilerinde NO/sGMP/PKG/K_{ATP} kanal yolu aktivasyonunun rol oynadığı bilinmektedir (Staurengo-Ferrari ve diğ., 2014, Florentino ve diğ., 2015). Yapılan çalışmalar NO-sGMP aracılı analjeziye Ca⁺² kanallarının da dahil olabileceğini göstermiştir. Şöyle ki; spesifik fosfodiesteraz-5 inhibitörü vardenafilin, sıçanlarda karragen-indüklü nosisepsiyon modelinde periferel antinosiseptif etkisinin, bu etkisine NO-sGMP yolağının ve Ca⁺² kanalının katkısı incelenmiştir. L-NAME [(N(G)-Nitro-L-arginine methyl ester) NOS inhibitörü], ODQ (guanilatsiklaz inhibitörü), A23187 (Ca iyonoforu) kullanımının vardenafilin etkisini azaltırken, L-arjinin (NO donörü) vardenafilin antinosiseptif etkisini artırdığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar vardenafilin antinosiseptif etkisine NO-sGMP yolağının ve sGMP tarafından uyarılan Ca⁺² ile ilişkili dinamiklerin katıldığını göstermektedir (Gediz, 2015). Yapılan bir çalışmada NO'nin spinal düzeyde dipiron aracılı antinosisepsiyona katıldığı bulunmuştur. NOS inhibitörü olan L-NMMA'nın intraplantar uygulamasının sıçanlarda dipiron (intraplantar) tarafından sağlanan antinosisepsiyonu ortadan kaldırdığını gösterilmiştir (Lorenzetti ve Ferreira, 1996). Supraspinal düzeyde ise temporomandibular eklem artritinin bir modelinde, spinal trigeminal nöronlardaki nNOS'dan gelen NO'nin antinosisepsiyonda rol oynadığı gösterilmiştir (Tesser-viscaino ve diğ., 2009). Başka bir çalışmada ise bazal NO konsantrasyonlarının Ca⁺² ve Na⁺ bağımlı bir şekilde γ -aminobütirik asit (GABA) salımını azalttığı, yüksek NO seviyelerinin ise ağrı kontrolünde rol oynayan önemli bir nörotransmitter olan GABA'nın salımını arttırdığı gösterilmiştir (Calabrese ve diğ., 2007).

2.5. Ağrının Tedavisi

Akut ağrı genellikle doku travmasına yanıt olarak ortaya çıkan karmaşık, çok boyutlu bir deneyimdir. Farmakolojik tedavi, akut ağrı yönetiminin temel taşıdır. Çoklu faktörler (örneğin ağrı yoğunluğu, kalitesi ve modeli; hasta tercihleri; ilaç yan etki profilleri) ilaç seçimini etkilemektedir. Çoğu akut ağrı nosiseptif niteliktedir ve non-opioidlere ve opioidlere cevap vermektedir (Berry ve diğ., 2001). Ağrı yönetiminde temel olarak opioidler ve nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) kullanılmaktadır (Li ve Zhang., 2012). Bununla birlikte, akut ağrıyı yönetmek için bazı adjuvan analjezikler (örn., Lokal anestezipler) de kullanılmaktadır. Genel olarak, hafif somatik ağrı, oral non-opioidlere (örn., Asetaminofen ve NSAİİ'ler), topikal ajanlara

(örn., Lokal anestezikler) ve fiziksel tedavilere (örn., Dinlenme, buz, kompresyon, yükselme) iyi yanıt vermektedir. Orta ila orta derecede şiddetli akut ağrının opioid gerektirmesi ise daha olasıdır. Non-opioidler sıklıkla ağrı durumunu iyileştirmek ve yan etki riskini azaltmak için opioidler ile birleştirilebilmektedir (Berry ve diğ., 2001). Periferik lifler ve merkezi nöronlar dahil olmak üzere somatosensoriyel sistemin bir lezyonu veya hastalığından kaynaklanmakta olan nöropatik ağrının tedavisinde ise ilk basamak olarak antidepresanlar ve antiepileptikler kullanılabildiği gibi terminal dönemdeki kansere bağlı ağrılar da yine sıklıkla opioidlerden yardım alınmaktadır (Colloca ve diğ., 2017).

2.5.1. Ağrının doğal tedavisi

Günümüz tıbbında geleneksel tedavilere, özellikle bitkisel ilaçlarla tedaviye ilgi giderek artmaktadır. Özellikle son 20 yılda gelişmiş ülkelerde bitkisel tedavi yaklaşımı artış göstermektedir. Bitkisel ilaçların bütün dünyadaki toplam pazar payının 2000 yılı için yaklaşık 60 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir ve bu, dünyadaki yıllık ilaç pazarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2000 yılındaki raporunda, Avrupa, Avustralya ve Kuzey Amerika'da yaşayan insanların yaklaşık %50'sinin alternatif-destekleyici tedavi metodlarından birini kullandıklarını ve bu metodlar içinde en çok kullanılanın da bitkisel ilaçlar olduğunu açıklamıştır (Gürün, 2004). Her ne kadar farmakolojik ağrı yönetimi birçok ağrılı hastalıkta önemli bir rahatlama sağlasa da, pek çok hasta tamamlayıcı ve alternatif tıp ile desteklenmektedir. Ağrı tedavisinde kullanılan botanikler, bir hastanın yaşam kalitesini iyileştirmeye katkıda bulunabilmekte ve geleneksel ağrı yönetimini etkileyerek geliştirebilmektedir (Zareba, 2009). Hastalıklar için alternatif bir tedavi yöntemi olan bitkisel ilaçlar, farklı bitkilerin ve ekstrelerinin kullanımını kapsamaktadır. Bitkisel ilaçlar ekstrakt, tablet, uçucu yağ veya merhem içeren farklı formlarda hazırlanmaktadır. Çeşitli hastalık durumlarını tedavi etmek için kullanılan bitkisel ilaçlar, bazı vakalarda geleneksel ilaçlara göre daha az yan etki gösterebilmesi nedeniyle tercih edilebilmektedir (Arome ve diğ., 2014).

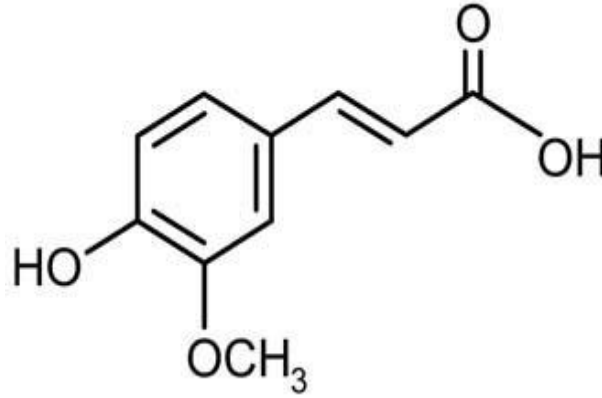
Son yıllarda tıbbi araştırmalarda muazzam bir ilerleme kaydedilmiş olsa da ağrı ve iltihaplanma gibi birçok ciddi hastalığın tedavisi hala sorunludur. Şu anda kullanılan antiinflatuar ve analjezik ilaçlar bazı ciddi yan etkilere sebep olmaktadır. Bu nedenle,

daha az yan etki ile güçlü analjezik ve antiinflamatuvar ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bitkisel ilaçlar, güvenli, etkin ve kültürel kabul edilebilirliğe sahiptir ve sentetik ilaçlara göre daha az yan etki göstermektedir. Bitkiler aleminde bulunan kimyasal bileşikler, yaşayan floraların fizyolojik fonksiyonlarının bir parçasıdır ve insan vücudu ile daha iyi uyum içinde olması beklenmektedir (Sen ve diğ., 2010). Bitkilerde bulunan birçok fenolik bileşiğin de analjezik, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikler gösterdiği bilinmektedir (Gupta ve diğ., 2012).

2.6. Fenolik Bileşenler

Fenolik bileşikler, bir hidroksil grubu taşıyan bir aromatik halkaya sahip olan ve çoğu bitki kökenli olan sekonder ürünlerdir (Özeker, 1999). Antialerjenik, antimikrobiyal, antiarterojenik, antitrombotik, antiinflamatuvar, vazodilatör ve kardiyokoruyucu etki gösteren en yaygın fitokimyasal gruplarından biridir. Fenolik bileşikler redoks ve metal şelatlama özelliğine sahip antioksidanlardır (Aarabi ve diğ., 2015). Tahıllar, sebzeler, meyveler, baklagiller, fındık, şarap, bira, çay, kakao ve elma şarabı gibi bitkilerin hemen hemen her yerinde bulunurlar. Son zamanlarda bazı fenolikler ve bunların antioksidan ve serbest radikal süpürme yetenekleri nedeniyle insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri ile ilişkili olarak gıda fenoliklerine olan ilgi de büyük ölçüde artmıştır (Proestos ve diğ., 2008). Fenolik asitler antioksidan aktiviteleri nedeniyle antik çağlardan beri gıda endüstrisinde koruyucu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca HIV, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi yaşamı tehdit eden hastalıkların riskini azaltarak, antiaging gibi önemli biyolojik aktivitelere de sahiptirler (Saibabu ve diğ., 2015). Ayrıca fenolik asitleri içeren bazı bitkilerin ve bazı polifenol ve fenolik asitlerin analjezik etki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Yao ve diğ., 2016; Boussouf ve diğ., 2017). Bu fenolik bileşiklerden birisi de ferulik asittir. Ferulik asitin antiinflamatuvar ve analjezik etkinliğe sahip olduğu yapılan sınırlı çalışmalarla ortaya konmuştur (Zhang ve diğ., 2010).

2.6.1. Ferulik asit



Şekil 2.1. Ferulik asitin kimyasal formülü

Trans ferulik asit [(E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enoic acid]] yapısının belirlenebilmesi için ilk olarak, *Ferula foetida*'dan izole edilmiş ve adını da bu bitkiden almıştır. Ferulik asit, 1925 yılında kimyasal olarak sentezlenmiş ve doymamış bir yan zincire sahip olduğu ayrıca hem cis- hem de trans- izomerik formların varlığı gösterilmiş bir polifenoldür (Kumar ve Pruthi, 2014). Ferulik asit, Shikimate yolu ile fenilalanin ve tirozin metabolizmasından doğan ve özellikle tahıl, meyve ve sebze gibi bitkilerde, bulunan, sinnamik asitle yakın benzerlik gösteren bir fenoliktir (Gohil ve diğ., 2012). Antikanser, antidiyabetik, kardiyokoruyucu, nöroprotektif, analjezik ve antiinflamatuvar aktivite gibi geniş bir yelpazede tedavi edici etkilere sahiptir (Gohil ve diğ., 2012; Ozaki, 1992). Ayrıca yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu sayesinde güçlü bir antioksidan olan ve insan sağlığını olumlu yönde etkilediği bilinen ferulik asit, serbest radikallerin etkili bir temizleyicisidir ve bazı ülkelerde lipid peroksidasyonunu önlemek için gıda katkı maddesi olarak onaylanmıştır. Etkin olarak süperoksit anyon radikalini temizler ve lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Ferulik asit ve ilgili ester türevleri dahil olmak üzere bir dizi antioksidanın, bakteriyel endotoksin lipopolisakkarit tarafından uyarılan hücrelerdeki bazı inflamatuvar mediyatörlerin, örneğin prostaglandin E2 ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve iNOS ekspresyonunun ve fonksiyonunun seviyesini azalttığı bildirilmiştir. Hosada ve diğ., ferulik asitin Ferulol-mio-inozitöz türevlerinin insan kolon kanseri DLD-1 hücrelerinde, β -galaktosidaz haberci gen tahlil sistemi aracılığıyla siklooksijenaz-2 promotör aktivitesini baskıladığını bildirmiştir. Bu bulgular, ferulik asitin antiinflamatuvar ilaç potansiyeline sahip olabileceğini en azından

kısmen antiinflamatuvar etki mekanizmalarının ortaya konduğunu göstermektedir (Srinivasan ve diğ., 2007). Lv ve diğ., tarafından yürütülen bir çalışmada, CCI [Chronic Constriction Injury (kronik konstriksiyon yaralanması)] farelerine kronik uygulanan ferulik asitin (10, 20, 40 and 80 mg/kg, *p.o.*) analjezik etkisini ve mekanizmasını gözlemlemek için termal hiperaljezi ve mekanik allodini testleri uygulanmıştır. Ferulik asitin CCI farelerinde ısı algılama ve mekanik allodinide kayda değer bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar ferulik asitin analjezik etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir (Lv ve diğ., 2013). Zhang ve diğ., uyguladığı bir çalışmada ise CCI sonrası sıçanlarda sodyum ferulatın P2X reseptörünün aracılık ettiği hiperaljezi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla ferulik asitin tuz formu olan sodyum ferulat ve normal serum fizyolojisi kıyaslamışlardır. Sodyum ferulatın kronik nöropatik ağrı hasarı sırasında P2X reseptörünün aracılık ettiği primer nöronlar tarafından iletilen ağrıyı ve CCI sıçan modelindeki termal ve mekanik hiperaljeziyi azaltabildiğini ortaya koymuşlardır (Zhang ve diğ., 2010). Ferulik asitin antiinflamatuvar etkinliğini incelemek için yapılan bir çalışmada *L. Wallichii* ve *Angelica Sinensis*'ten izole edilen ferulik asitin iltihap önleyici ve analjezik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Ozaki, 1992). Ferulik asitin periferik ve santral düzeyde analjezik etkisinin ortaya koyulduğu çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte özellikle periferik analjezik etkide olmak üzere analjezik etkiye aracılık eden mekanizmalar literatürlerde henüz yeterince detaylandırılmamıştır. Etkin maddelerin etki mekanizmalarının aydınlatılması ilaç olma potansiyeline sahip bu bileşiklerin etki profillerinin ortaya koyulması açısından önemlidir.

Bu bilgilerden hareketle tez çalışmasında, farelerde oral uygulanan 20, 40, 80 ve 160 mg/kg ferulik asitin periferik analjezik etkinliği farelerde asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi ile değerlendirilecektir. Ferulik asitin etkinliği ayrı bir grup oluşturularak referans madde olarak kullanılacak olan 100 mg/kg asetil salisilik asit (ASA) ile karşılaştırılacaktır. Ferulik asitin neden olduğu antinosisepsiyona, ağrı modülasyonuna önemli katkısı olduğu bilinen NO/sGMP/PKC/ATP'ye duyarlı K^+ kanalı yolağının etkisi araştırılacaktır. L-arjinin/NO yolağı için NO prekürsörü olan 100 mg/kg L-arjinin ve NOS inhibitörü 30 mg/kg L-NAME, sGMP yolağının rolünü araştırmak için guanilil siklaz inhibitörü olan 20 mg/kg metilen mavisi, ATP'ye duyarlı K^+ kanalı yolağının rolünü araştırmak için ATP'ye duyarlı K^+ kanal blokörü 10 mg/kg glibenklamid uygulanacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Sarf Malzemeleri

Trans-ferulik asit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), L-arginin (Sigma-Aldrich), L-NAME (N(G)-Nitro-L-arginine methyl ester) (Sigma-Aldrich), metilen mavisi (Merck, Darmstadt, Germany), glibenklamid (Sigma-Aldrich), asetik asit, asetil salisilik asit (Sigma-Aldrich), Dimetilsülfoksit (Sigma-Aldrich).

3.2. Deney Hayvanları

Deneylerde yetişkin CD-1 erkek fareler kullanıldı. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsüne ayarlanmış 22 ± 1 °C sıcaklığındaki iyi havalandırılan odalarda barındırılan hayvanlara beslenmeleri amacıyla standart yem pelletleri ve çeşme suyu verildi. Fareler ferulik asit ile oluşabilecek olası etkileşimlerden dolayı deneyler uygulanmadan 6 saat önce aç bırakıldı. Deneysel süreç Helsinki Deklarasyonunun etik prensiplerine uygun olarak hazırlandı ve Anadolu Üniversitesi Yerel Etik Komitesi tarafından Etik Kurul Onayı alındı (Karar No:2018-06).

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Etki analizi için oluşturulan deney gruplarına ayrı ayrı; **1.** eşit hacim çözücü [kontrol grubu, %2 dimetil sülfoksit (DMSO)]; **2.** 20 mg/kg ferulik asit: **3.** 40 mg/kg ferulik asit: **4.** 80 mg/kg ferulik asit: **5.** 160 mg/kg ferulik asit gavaj iğnesi yardımıyla oral yolla (*p.o.*) uygulandı. Ferulik asit dozu daha önce yapılan çalışmalardan hareketle belirlendi (Xu ve diğ., 2013; Bektaş ve Arslan, 2016). Ferulik asitin periferik analjezik etkinliğinin referans bir madde ile karşılaştırılması için oluşturulan ayrı bir gruba 100 mg/kg asetil salisilik asit (ASA) uygulandı (Mohamad ve diğ., 2011). Ferulik asitin analjezik etkisinin 80 mg/kg dozda belirgin olduğunun belirlenmesi ile birlikte L-arginin/NO-sGMP-ATP'ye duyarlı K⁺ kanalı yolağının analjezik etkiye katılımının değerlendirileceği çalışmalara geçildi. Etki mekanizması analizi için oluşturulan deney gruplarına ayrı ayrı; **1.** Çözücü *p.o.* uygulamasından 20 dk. önce NOS inhibitörü olan 30 mg/kg, *i.p.*, L-NAME: **2.** 80 mg/kg ferulik asit *p.o.* uygulamasından 20 dk. önce 30 mg/kg, *i.p.*, L-NAME: **3.** Çözücü *p.o.* uygulamasından 20 dk. önce nitrik oksit prekürsörü olan 100 mg/kg, *i.p.*, L-arginin: **4.** 80 mg/kg ferulik asit *p.o.* uygulamasından 20 dk. önce 100 mg/kg, *i.p.*, L-arginin: **5.** 30 mg/kg, *i.p.*, L-NAME uygulamasından 20 dk. önce 100 mg/kg, *i.p.*, L-arginin: **6.** Çözücü *p.o.* uygulamasından 15 dk. önce guanilil

siklaz inhibitörü olan 20 mg/kg, *i.p.*, metilen mavisi: 7. 80 mg/kg ferulik asit *p.o.* uygulamasından 15 dk. önce 20 mg/kg, *i.p.*, metilen mavisi: 8. Çözücü *p.o.* uygulamasından 15 dk. önce ATP'ye duyarlı K⁺ kanalı blokörü 10 mg/kg, *i.p.*, glibenklamid: 9. 80 mg/kg ferulik asit *p.o.* uygulamasından 15 dk. önce 10 mg/kg, *i.p.*, glibenklamid uygulaması yapıldı. Kullanılan antagonistler ve dozları daha önce yapılan çalışmalardan hareketle belirlendi (Mansouri ve diğ., 2013; Islam ve diğ., 2016). ASA uygulamasından 30 dk. sonra, L-arjinin+L-NAME uygulanan grupta L-NAME uygulamasından 20 dk. sonra, diğer tüm gruplarda çözücü veya ferulik asit uygulamasından 40 dk. sonra ise asetik asit enjeksiyonu yapılarak kıvrınma test prosedürünün uygulamasına geçildi.

3.4. Deneysel Yöntem

3.4.1. Asetik asit ile indüklenen kıvrınma testi

Kıvrınma testi, farelerde, asetik asit gibi tahriş edici maddelerin enjeksiyonuyla periferik kökenli ağrı uyandırmak için kullanılan kimyasal bir yöntemdir. Test bileşiğinin analjezik etkisi kıvrınma sıklığında azalmaya neden olmaktadır. Karın kaslarının kasılması, arka ekstremitelerin geriye doğru uzaması ve karnın yere sürmesi ile karakterize bir kıvrınma hareketidir (Gawade, 2012). Bekleme süresi dolan farelere %0,6'lık asetik asit solüsyonu *i.p.* enjekte edildi. 5 dk.'lık bekleme süresinin sonunda, her hayvanda bahsedilen kıvrınma hareketleri 20 dk. süresince sayıldı (Florentino ve diğ., 2015).

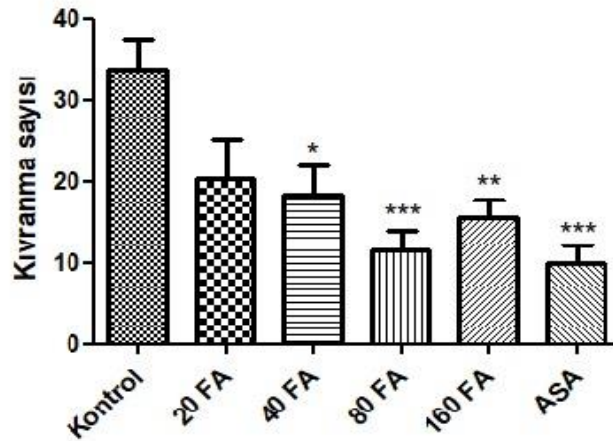
3.5. İstatistiksel Analiz

Kıvrınma testinden elde edilen verilerin analizleri tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanarak yapıldı. Tüm istatistiksel analiz sonuçları Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı kullanılarak hesaplandı. Analiz sonuçları ortalama $\pm$ standart hata (S.H.) olarak ifade edildi ve istatistiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak $p < 0,05$ kabul edildi. Grafiklerin çizimleri için, Graphpad Prism ver. 5.0 programı kullanıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Asetik Asit İle İndüklenen Kıvrınma Testi

Şekil 4.1’de asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde 20, 40, 80, 160 mg/kg (*p.o.*) ferulik asit ve 100 mg/kg ASA (*p.o.*) uygulanan gruplarda ölçülen kıvrınma sayıları grafiksel olarak görülmektedir. 40, 80, 160 mg/kg ferulik asit ve 100 mg/kg ASA uygulanan hayvanlarda asetik asit ile oluşturulan kıvrınma hareketi sayıları kontrol grubuna göre anlamlı olarak (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,001$, $p<0,01$ ve $p<0,001$) azaldı. 20, 40, 80, 160 mg/kg ferulik asit ve 100 mg/kg ASA uygulamasının asetik asit kaynaklı kıvrınma hareketi sayısını sırasıyla %39,93, %45,86, %65,89, %44,91 ve %70,34 oranında azalttığı hesaplandı (Çizelge 4.1).



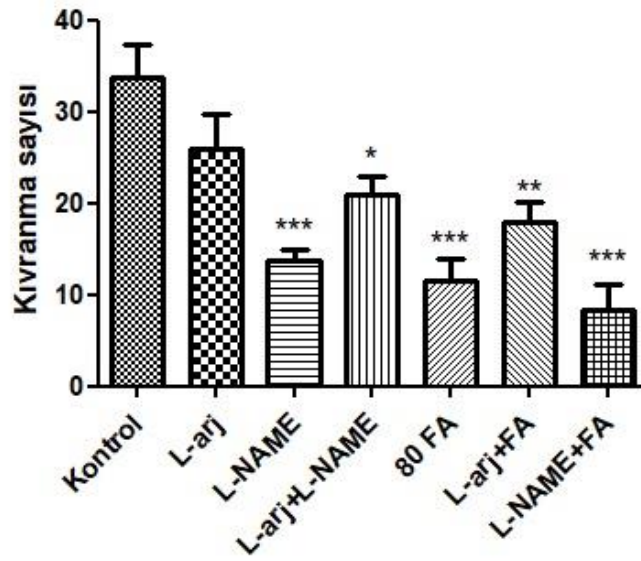
Şekil 4.1. 20, 40, 80 ve 160 mg/kg ferulik asitin ve 100 mg/kg ASA'nın kıvrınma testindeki analjezik etkisi. FA; Ferulik Asit, ASA; Asetil Salisilik Asit. * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlı fark. Değerler ortalama ± S.H. (Standart Hata). (n=8).

Çizelge 4.1. Ferulik asit ve ASA'nın asetik asitle indüklenen kıvranma sayısı üzerine % inhibisyonu. FA; Ferulik Asit, ASA; Asetil Salisilik Asit. % inhibisyon = $[(\text{kontrol grubunun kıvranma sayısı} - \text{test grubunun kıvranma sayısı}) / \text{kontrol grubunun kıvranma sayısı}] \times 100$ (Jaiswal ve Sontakke, 2012).

Test maddeleri	% inhibisyon
20 FA	%39,93
40 FA	%45,86
80 FA	%65,89
160 FA	%44,91
ASA	%70,34

4.2. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine L-arjinin/NO Yolağının Katkısı

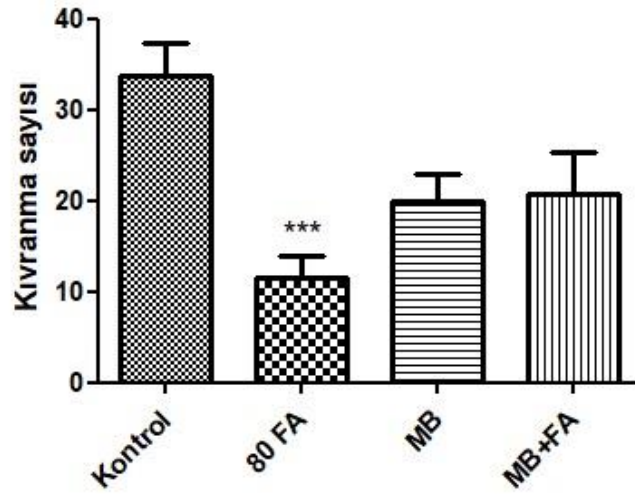
Şekil 4.2'de asetik asitle indüklenen kıvranma testinde NO prekürsörü olan 100 mg/kg (*i.p.*) L-arjinin ve NOS inhibitörü 30 mg/kg (*i.p.*) L-NAME ön uygulamasının 80 mg/kg ferulik asitin periferik analjezik etkisini ne şekilde değiştirdiği görülmektedir. Tek başına uygulanan L-arjinin asetik asitle oluşan kıvranma sayısı üzerine herhangi bir etki göstermezken, L-NAME ve ferulik asit ile oluşan kıvranma sayısındaki anlamlı azalmayı ise kısmen geri çevirdi. Tek başına L-NAME uygulaması ($p < 0,001$) kıvranma sayısını anlamlı olarak azalttı. Ferulik asit öncesi L-NAME ön-uygulaması ferulik asit ile oluşan kıvranma sayısındaki anlamlı azalmayı geri çevirmedi.



Şekil 4.2. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 100 mg/kg L-Arjinin ve 30 mg/kg L-NAME ön-uygulamasının etkisi. FA; Ferulik Asit, L-arj; L-arjinin, L-NAME; N(ω)-nitro-L-arginine methyl ester. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; Kontrol grubuna göre anlamlı fark. Değerler ortalama $\pm$ S.H. (Standart Hata). (n=8).

4.3. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine 3'-5'-siklikguanozin monofosfat (sGMP) Yolağının Katkısı

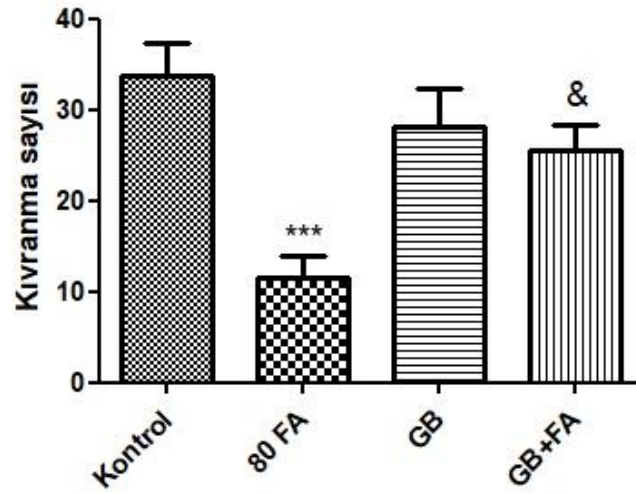
Şekil 4.3'te asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde GS inhibitörü olan 20 mg/kg (*i.p.*) metilen mavisi ön-uygulamasının 80 mg/kg ferulik asitin periferik analjezik etkisini ne şekilde değiştirdiği görülmektedir. Metilen mavisi tek başına uygulandığı grupta kıvrınma sayısını kontrol grubuna göre anlamlı değil fakat göreceli olarak azalttı. Ferulik asit öncesi metilen mavisi ön-uygulaması ferulik asit ile oluşan kıvrınma sayısındaki anlamlı olmasa da göreceli olarak geri çevirdi.



Şekil 4.3. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 20 mg/kg metilen mavisi ön-uygulamasının etkisi. FA; Ferulik asit, MB; Metilen Mavisi. *** $p < 0.001$; Kontrol grubuna göre anlamlı fark, Değerler ortalama $\pm$ S.H. (Standart Hata). (n=8).

4.4. Ferulik Asitin Analjezik Etkisine ATP-Bağımlı K^+ Kanalı Yolağının Katkısı

Şekil 4.4'te asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde ATP'ye duyarlı K^+ kanal blokörü olan 10 mg/kg (*i.p.*) glibenklamid ön-uygulamasının 80 mg/kg ferulik asitin periferik analjezik etkisini ne şekilde değiştirdiği görülmektedir. Tek başına uygulanan glibenklamid asetik asitle indüklenen kıvrınma sayısı üzerinde etki göstermedi. Ferulik asit öncesi glibenklamid ön-uygulaması ferulik asit uygulaması ile azaltılan kıvrınma sayısını anlamlı olarak ($p < 0,05$) geri çevirdi.



Şekil 4.4. 80 mg/kg ferulik asitin kıvrınma testinde göstermiş olduğu analjeziye 10 mg/kg glibenklamid ön-uygulamasının etkisi. FA; Ferulik asit, GB; Glibenklamid. ***p<0,001; Kontrol grubuna göre anlamlı fark, &p<0,05; 80 mg/kg ferulik asite göre anlamlı fark, Değerler ortalama ± S.H. (Standart Hata). (n=8).

Bu tez çalışmasında farelerde ferulik asitin periferik analjezik etkisi ve bu etkinliğe NO/sGMP/PKG/K_{ATP} yolağının katılımı araştırılması amacıyla potansiyel analjezik ajanların antinositif ve antiinflamatuvar özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılan bir yöntem olan asetik asitle indüklenen kıvrınma testi kullanılmıştır (Ping ve diğ., 2018). Kıvrınma testi, farelerde, asetik asit gibi tahriş edici maddelerin enjeksiyonuyla periferik kökenli ağrı uyandırmak için kullanılan kimyasal bir yöntemdir (Gawade, 2012). Kıvrınma hareketi, karın kaslarının kasılması ile arka ekstremitelerin geriye doğru uzaması ve karnın yere sürmesi ile karakterizedir (Gawade, 2012). Bu belirtiler ağrı sinyali olarak kabul edilmektedir. Test ilacı bu belirtileri azaltırsa analjezik etkili olarak kabul edilmektedir (Patel ve diğ., 2016). Bu tez çalışmasında fenolik bir madde olan ferulik asitin asetik asit ile oluşturulan ağrı (kıvrınma davranışı) davranışını 40, 80 ve 160 mg/kg dozlarda anlamlı derecede azalttığı görülmektedir. 80 mg/kg ferulik asit farelerin kıvrınma sayısını %65,89 oranında azaltarak asetik asitin neden olduğu abdominal kasılmalarda önemli bir inhibisyon sağlamıştır. Bu inhibisyon 100 mg/kg ASA uygulamasında elde edilen %70,34 inhibisyon oranına oldukça yakındır. 160 mg/kg ferulik asit ile kıvrınma sayısı cevabının tekrar artış göstermesi ise hormesis veya U-şekilli doz ile açıklanabilir. Şöyle ki; dozdaki artış, daha düşük veya orta dozlardaki elde edilebilen farmakolojik etkiyi azaltabilmektedir (Calabrese ve

Baldwin, 2001). Özetle, ferulik asitin analjezik etki sergilediği söylenebilir. Bu sonuç yapılan benzer çalışma sonuçları ile örtüşmektedir. Örneğin; yapılan bir çalışma ile oral uygulanan 20, 40 ve 80 mg/kg ferulik asitin sıcak plaka ve kuyruk batırma testleri ile antinosiseptif aktivitesi ölçülmüş ve önemli bir antinosiseptif aktiviteye neden olduğu gösterilmiştir (Bektaş ve Arslan, 2016). Ferulik asitin sodyum tuzu olan sodyum ferulatın nöropatik ağrının CCI modelinde P2X3 reseptörlerinin aracılık ettiği primer nöronlar tarafından iletilen ağrıyı azaltarak termal ve mekanik hiperaljeziyi azalttığı gözlemlenmiştir (Zhang ve diğ., 2010). Bir başka çalışmada ise sıçanlarda vinkristin-indüklü nöropatik ağrı modelinde ferulik asitin antinosiseptif etki potansiyeli araştırılmış, mekanik hiperaljeziyi, termal hiperaljeziyi ve mekanik allodiniyi azalttığı gözlemlenmiştir (Vashistha ve diğ., 2017). Yapılmış olan bu çalışmalar birbirini desteklemekle birlikte ferulik asitin analjezik etki mekanizması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Örneğin; nöropatik ağrının CCI modeli ile yürütülen bir çalışmada ferulik asit uygulamasının, β_2 -adrenoseptör ve 5-HT_{1A} reseptörleri aracılığıyla inici monoaminerjik sistem üzerinden termal hiperaljeziyi ve mekanik allodiniyi azalttığı bildirilmiştir (Xu ve diğ., 2016). Farelerde rezepin-indüklü ağrı ve depresyon benzeri davranış üzerinde FA'in etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada ise FA'in frontal korteks ve hipokampustaki noradrenalin, serotonin ve dopamin seviyelerini azaltarak termal hiperaljeziyi ve mekanik allodiniyi azalttığı bildirilmiştir (Xu ve diğ., 2013). Fakat daha önce bahsedildiği gibi ağrı ve kontrolü bir çok kimyasalın yer aldığı kompleks bir süreçtir. Dolayısıyla farmakolojik etkilerin farklı mekanizma bazlı farklı yöntemlerde test edilmesi ve ilgili sistemlerin agonist/antagonistleri ile mekanistik çalışmalarının yapılması önem arz etmektedir. İyi bir viseral ağrı modeli olan asetik asitli kıvrınma yönteminde hayvanlara intraperitoneal asetik asit verilmesi, histamin, serotonin, bradikinin, nitrik oksit, sitokinler ve eikozanoidler gibi bazı mediyatörlerin peritoneal sıvıda serbestleşmesini sağlamakta ve miktarlarında artışa sebep olmaktadır (Mansouri ve diğ., 2013). Ayrıca asetik asit enjeksiyonunu takiben peritoneal sıvıda, prostaglandinlerin özellikle PGE₂'nin düzeyinde artış meydana gelmektedir (Ping ve diğ., 2018). Bu mediyatörler nosisepsiyon eşiğini düşürmekte ve nosiseptif lifleri uyarmaktadır (Mansouri ve diğ., 2013; Coutaux ve diğ., 2005). Dolayısıyla ferulik asitin bu test modelinde aktif olması, söz konusu bu nosiseptif maddelerin miktarında azalmaya veya bu maddelerce uyarılan nosiseptörlerin aktivitesinde azalmaya neden olarak periferik analjezik etkiye sahip olabileceğini akla getirmektedir. Bu tez

çalışmasında ise aktivasyonu ile analjezi sağlayan L-arjinin/NO/sGMP/K_{ATP} yolağının ferulik asit analjezik etkisine katılımı araştırılmıştır. L-arjinin/NO/sGMP yolağını stimüle eden ajanların K_{ATP} kanallarının açılması yoluyla hipernosisepsiyonu bloke ettiği ve bu yolağın aktivasyonunun analjezi oluşturmak amacıyla yeni ilaçların keşfinde kullanılabileceğini bilinmektedir (Sachs ve diğ., 2004). Bu yolağın diklofenak, rofekoksib, ketorolak gibi periferik ve morfin gibi santral etkili analjezik ilaçların etki mekanizmasına aracılık ettiği bilinmektedir (Vale ve diğ., 2007). Bu tez çalışmasında L-arjinin-NO yolağının rolünü aydınlatmak amacıyla L-arjinin ve L-NAME kullanılmıştır. L-arjinin, temel bir yarı-esansiyel amino asittir ve NO üretimi için bir prekürsördür. NO, memeli hücrelerinde NOS ile L-sitrulin'e dönüştürülen L-arjininin terminal guanidin azotunun oksidasyonu ile üretilir. L-arjinin uygulamasının artmış hiperanaljezi ve bradikinin, P maddesi ve dekstranın uyandırdığı nosiseptif veya inflamatuvar yanıtlara neden olduğu bildirilmiştir (Zulazmi ve diğ., 2017). Fakat, L-arjinin öncülüğünde oluşan NO nosiseptif sistemin seviyesine (periferik, merkezi) hedef dokuya, hayvan ağrı modeline ve konsantrasyonuna göre ağrıyı indüklemeye veya azaltmaya özelliğine sahiptir (Parvardeh ve diğ., 2018). Çalışmamızda L-arjinin ön-uygulamasının kontrol grubuna kıyasla asetik asitten kaynaklanan nosisepsiyonu değiştirmediği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Mansouri ve diğ., (2013) bu yolağın periferik antinosiseptif etkisini değerlendirmek için yaptıkları bir çalışmada, asetik asitle indüklenen kıvrınma testinde farelere L-arjinin (100 mg/kg, *i.p.*) ön-uygulamasının kontrol grubuna kıyasla nosisepsiyonu değiştirmediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda L-NAME'nin ise nosisepsiyonu anlamlı ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. L-NAME, NOS izoformlarının seçici olmayan bir inhibitörüdür ve böylece NO oluşumunu azaltır (Vale ve diğ., 2007). Daha önce yapılan çalışmalar NOS inhibitörlerinin asetik asitten kaynaklanan nosiseptif cevabı azalttığını göstermiştir. L-arjinin/NO yolağının periferik antinosiseptif etkiye katkısını değerlendirmek amacıyla formalin testi kullanılarak yapılmış bir çalışmada sıçanların sağ arka pençesine (100 µg/pençe) intraplantar L-NAME enjeksiyonunun kontrol grubuna kıyasla testin erken fazında nosiseptif cevabı anlamlı derecede azalttığı görülmüştür (Parvardeh ve diğ., 2018). Mansouri ve diğ., (2013) yaptıkları çalışmada ise farelere L-NAME (30 mg/kg, *i.p.*) uygulamasının nosiseptif yanıtı azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada L-NAME'nin tek başına gözlemlenen antinosiseptif etkisi, NO'nin asetik asit kaynaklı nosisepsiyonda rol alan mediyatörlerden biri olduğunu desteklemektedir. Bu tez çalışmasında, tek başına L-NAME ferulik asit kadar etkili

bulunmuştur ve ikisi bir arada uygulandığında ferulik asit analjezi geri dönmekle birlikte, tek başlarına uygulandıklarına benzer oranda antinosiseptif etki gözlenmiştir. Ayrıca, birlikte uygulandıklarında L-arjininin, L-NAME ve ferulik asitin gösterdiği antinosiseptif aktiviteyi kısmen geri çevirdiği görülmüştür. L-NAME varlığında değil fakat, L-arjinin varlığında ferulik asit analjezisinin hafiflemesi L-arjininin aljeziye neden olan NO'nin prekürsörü olması ve ortamda artan NO ile aljezi şiddetinin artması ile ilişkilendirilebilir. Dolayısıyla, bu sonuçlar, ferulik asitin periferik antinosiseptif etkisinde L-arjinin/NO yolağının kısmen etkili olabileceğini söylemek için yeterli değildir.

Tez çalışmasında ferulik asitin analjezik etkisinin sGMP ile ilişkisini belirlemek adına metilen mavisi kullanılmıştır. Metilen mavisi, GS içindeki hem demirini oksitleyerek sGMP oluşumunu dolaylı olarak inhibe eden spesifik bir GS inhibitörüdür (Perimal ve diğ., 2010). NO-sGMP yolu aktivasyonu NO sentaz aktivasyonu ile tetiklenen NO'nun sentezine ve salınmasına bağlıdır. NO, GTP'den sGMP oluşumunu katalize eden çözünebilir GS'ı (sGC) aktive etmektedir (Cury ve diğ., 2011). sGS'in NO dışında karbonmonoksit (CO) ve hidroksil (OH) tarafından da aktive edilebildiği bilinmektedir. Bu bileşikler tarafından sGS aktivasyonu da yine sGMP oluşumuna yol açmaktadır (Schmidt, 1992). sGMP'nin aktive ettiği, PKG de iyon kanalları ve fosfodiesterazlar dahil olmak üzere hücrelerdeki birçok hedefin aktivitesini modüle etmektedir. Bu modülasyonun hem hiperaljezik hem de antinosiseptif etkiye neden olabildiği bildirilmiştir (Cury ve diğ., 2011). Bu çalışmada metilen mavisi enjeksiyonunun, farelerde asetik asit uygulamasının neden olduğu antinosisepsiyonu anlamlı ölçüde olmasa da belirgin şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçla uyumlu olarak, Perimal ve diğ., (2010) sGMP yolağının aktivasyonun ağrı ile ilişkisini incelemek için yaptıkları bir çalışmada 20 mg/kg metilen mavisi uygulamasının kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak asetik asitten kaynaklı kıvrınmayı inhibe ettiğini gözlemiştir. Bu çalışmada metilen mavisi ile gözlenen etkinin anlamlı olmaması deneysel koşulların farklı olmasına bağlanmıştır. Ferulik asit öncesi metilen mavisi uygulaması ile birlikte ise ferulik asitin periferik analjezik etkisi anlamlı olarak geri dönmüş olmasa da kaybolmuştur. Bu verilerden hareketle NO/sGMP yolağının ferulik asitin antinosiseptif etkisine kısmen aracılık ettiği düşünülmüştür. sGMP'nin K⁺ kanallarını fosforile ederek açması vasıtasıyla analjeziye yol açmasının haricinde başka yollar üzerinden de analjezi sağlayabildiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada sGS

aracılığıyla oluşan sGMP/PKG yolağının indirekt aktivasyonunun TRPV1 aktivitesini inhibe edebildiği ve bu yolla analjezik etki sağladığı gösterilmiştir (Jin ve diğ., 2012). Diğer bir çalışmada sGS tarafından aktive edilen sGMP'nin kısmen tetrodotoksin dirençli (TTX-R) sodyum kanallarının aktivitesini azaltarak nosiseptörlerin uyarılma kabiliyetini azalttığı ve analjeziye yol açtığı gösterilmiştir (Liu ve diğ., 2004). Gediz ve diğ., (2015) yaptığı bir çalışmada ise NOS inhibitörü, GS inhibitörü ve Ca^{+2} iyonoforunun oluşan antinosisepsiyonu bloke etmesi üzerine, NO/sGMP yolağı aktivasyonu ile uyarılan Ca^{+2} kanalları ile ilişkili dinamiklerin analjeziye neden olduğu ileri sürülmüştür.

Ferulik asitin antinosiseptif etkisinde K_{ATP} kanalının rolünü değerlendirmek için ise glibenklamid kullanılmıştır. Glibenklamidin spesifik olarak K_{ATP} kanallarını bloke ettiği ancak kalsiyum aktivasyonlu veya voltaj-kapılı K^+ kanalları gibi diğer tip K^+ kanallarını etkilemediği bilinmektedir (Mansouri ve diğ., 2013). Bu tez çalışmasında, glibenklamidin tek başına uygulandığında asetik asitten kaynaklanan nosisepsiyon üzerine etkili olmadığı, ferulik asit öncesi ön-uygulamasının ise ferulik asitin antinosiseptif etkisini anlamlı olarak geri çevirdiği gözlenmiştir. Bu veriler K_{ATP} kanallarının açılmasının ferulik asitin periferik antinosiseptif aktivitesinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Kanıtlar, K_{ATP} kanallarının ağrıda önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Bu kanalların açılması hücre dışına K^+ iyonu akışına izin vermekte ve böylece hücre membranı repolarizasyonu ve/veya hiperpolarizasyonu meydana gelmektedir. Bu da membran uyarılabilirliğinde azalma ve sonuç olarak analjezi ile sonuçlanmaktadır (Mansouri ve diğ., 2013). Bu kanalların vücutta adrenerjik, opioid, adenozerjik, serotonerjik, muskarinerjik sistemler gibi G-proteini kenetli reseptörler tarafından aktive edildiği bilinmektedir (Ocana ve diğ., 2004). Örneğin; yapılan çalışmalarda sıçanlarda delta opioid reseptör agonisti [D-Pen(2.5)] enkefalinin, muskarinik reseptör agonisti betanekolün ve ayrıca α_2 -adrenerjik reseptör agonisti deksmedetomidinin oluşturduğu antinosiseptif etkinin, K_{ATP} kanal blokleri glibenklamid tarafından ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir (Asano ve diğ., 2000; Yamazumi ve diğ., 2001; Picolo ve diğ., 2003). Benzer şekilde, farelerde adenosin A_1 reseptör agonisti R-PIA ((-)-N⁶-(2-fenilizopropil)-adenosin) tarafından indüklenen antinosiseptif etkinin glibenklamid, glipizid, glikuidon gibi K_{ATP} kanal blokerleri tarafından antogonize edildiği gösterilmiştir (Ocana ve Baeyens, 1994). Ayrıca, serotonin 5-HT_{1A} reseptör agonisti 8-OH-DPAT ((±)-8-hidroksi-2-(di-n-

propilamino)tetralin) tarafından indüklenen antinosisepsiyonun glikuidon ve glipizid tarafından geri çevrildiği de rapor edilmiştir (Robles ve diğ., 1996). Bu noktada, daha önce yapılan çalışmalara bu sistemlerin bir kısmının ferulik asit analjezisine katkı sağladığının gösterildiği çalışmalara dikkat çekilebilir. Örneğin ferulik asitin merkezi antinosiseptif etki mekanizmasının incelendiği bir çalışmada opioidderjik ve kolinerjik modülasyonun analjezik etkiye dahil olduğu gösterilmiştir (Bektaş ve Arslan, 2016). Bir başka çalışmada ise ferulik asitin nöropatik ağrıdaki analjezik etki mekanizması araştırılmış ve delta-opioid reseptörlerin ve 5-HT_{1A} reseptörlerinin bu etkinliğe aracılık ediyor olabileceği gösterilmiştir (Xu ve diğ., 2016). Dolayısıyla ferulik astin K_{ATP} kanalları üzerinden etkisi sayılan bu reseptör sistemleriyle etkileşerek gerçekleşiyor olabilir. Ayrıca vurgulamak gerekir ki bu çalışmada sGMP oluşumunun ferulik asit analjezisine primer olmasa da kısmen katkı sağladığı belirlenmiştir. Artan sGMP konsantrasyonunun, PKG aktivasyonuna yol açarak K_{ATP} kanallarının fosforile olmasına ve açılmasına neden olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla ferulik asit aracılığıyla saptanan K_{ATP} kanallarının açılımını, sGMP oluşumu başka mekanizmalarla paylaşıyor olabilir. Özet olarak, NO aracılığıyla değil fakat başka mekanizmalar aracılığıyla sGMP oluşumunun artışının yanı sıra yine farklı mekanizmalarca tetiklenen K_{ATP} kanallarının aktivasyonunun ferulik asitin saptanan periferik analjezik etkisine katkı sağladığı açıktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında ferulik asitin periferik analjezik etkinliği ve bu etkinliğe NO/sGMP/PKG/K_{ATP} yolağının olası rolü asetik asit ile indüklenen kıvrınma test yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışma sonuçları ferulik asitin periferik analjezik etkinliğe sahip olduğunu ve bu etkinliğe sGMP'nin kısmen fakat K_{ATP} kanalları aktivasyonunun primer olarak aracılık ettiğini göstermektedir. Ferulik asitin periferik analjezisine NO katılımının olmaması nedeniyle sGMP oluşumu ve özellikle K_{ATP} kanalı aktivasyonuna başka sistemlerin aracı olduğu düşünülmektedir. Nitekim K_{ATP} kanallarının sadece NO/sGMP yolağı ile aktive olmadığı bilinen bir gerçektir ve bu aşamada başka sistemlerin bu aktivasyonda rol alabileceği dikkate alınmalıdır. Ferulik asitin farmakolojik etkinliğini mekanizması ile desteklemek, ferulik asitle ilgili ileriki çalışmalara zemin hazırlaması açısından önem taşımaktadır. Bu bilgiler ve tez çalışması sonuçlarından yola çıkarak, ferulik asitin düşük toksisiteye sahip doğal bir antioksidan olduğu da göz önünde bulundurulduğunda, ağrı tedavisinde tek başına veya yardımcı ilaç olarak kullanılabilecek bir ajan olabileceğini söylemek mümkündür.

KAYNAKÇA

- Aarabi, A., Faghihian, H., Honarvar, M., Miazni, M. (2015). Determination of total phenolic compounds, antioxidant activity and ferulic acid in extracts of sugar beet pulp. *Hacettepe J. Biol. & Chem.* 43 (4), 251-257.
- Arome, D., Sunday, A.I., Onalike, E.I., Amarachi, A. (2014). Pain and inflammation: Management by conventional and herbal therapy. *Indian J Pain.* 28 (1), 5-12.
- Asano, T., Dohi, S., Iida, H. (2000). Antinociceptive action of epidural KATP + channel openers via interaction with morphine and an α_2 -adrenergic agonist in rats. *Anesth. Analg.* (90), 1146-1151.
- Aydede, M. Defending the IASP definition of pain. (2017). *The Monist.* 100 (4).
- Aydın, O.N. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 3 (2), 37- 48.
- Bektaş, N., Arslan, R. (2016). The Centrally-Mediated Mechanisms of Action of Ferulic Acid–Induced Antinociception. *Marmara Pharmaceutical Journal.* 20, 303-310.
- Berry, P.H., Covington, E.C., Dahl, J.L., Katz, J.A., Miaskowski, C., Chapman, C.R., McLean, M.J. (2001). Pain: Current Understanding of Assessment, Management, and Treatments. *American Pain Society.* 61-62.
- Boussouf, L., Boutennoune, H., Kebieche, M., Adjeroud, N., Al-Qaoud, K., Madani, K. (November, 2017). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South African Journal of Botany.* 113, 77-83.
- Brooks, K.G., Kessler, T.L. (December, 2017). Treatments for neuropathic pain. *The Pharmaceutical Journal.* 9 (12).
- Calabrese, E.J., Baldwin, L.A. (2001). Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *Trends Pharmacol Sci.* 22 (6), 285-291.
- Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D.A., Stella, A.M. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci.* 8, 766-775.

- Cazacu, I., Mogosan, C., Loghin, F. (2015). Safety issues of current analgesics: an update. *Clujul Med.* 88, 128-36.
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, AH., Yarnitsky D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N.B., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D.L., Dworkin, R.H., Raja, S.N. (2017). Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers.* 16 (3), 17002.
- Coutaux, A., Willer, J.C., Adam, F., Bars, D. (2005). Hyperalgesia and allodynia: Peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine.* 72 (5), 359–371.
- Cunha, T.M., Roman-Campos, D., Lotufo, C.F., Duarte, H.L., Souza, G.L., Verri, W.A., Funez, M.I., Dias, Q.M., Schivo, I.R., Domingues, A.C., Sachs, D., Chiavegatto, S., Teixeira, M.M., Hothersall, J.S., Cruz, J.S., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. (2010, Mar 2). Morphine peripheral analgesia depends on activation of the PI3K γ /AKT/nNOS/NO/K_{ATP} signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107 (9), 4442–4447.
- Cury, Y., Pikolo, G., Gutierrez, V.P., Ferreira, S.H. (2011). Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. *Nitric Oxide.* 25 (3), 243-54.
- Durate, I.D., Lorenzetti, B.B., Ferreira, S.H. (1990, Sep 21). Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol.* 186 (2-3), 289-93.
- Florentino, I.F., Galdino, P.M., Oliveira, L.P., Silva, D.P.B., Pazini, F., Vanderlinde, F.A., Liao, L.M., Menegetti, R., Costa, E.A. (2015). Involvement of the NO/cGMP/K_{ATP} pathway in the antinociceptive effect of the new pyrazole 5-(1-(3-fluorophenyl)-1H-pyrazol-4-yl)-2H-tetrazole (LQFM-021). *Nitric Oxide.* 47, 17-24.
- Galdino, G.S., Duarte, I.D., Perez, A.C. (2015). Central release of nitric oxide mediates antinociception induced by aerobic exercise. *Braz J Med Biol Res.* 48 (9), 790-797.

- Gawade, S. (2012). Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. 3 (4), 348.
- Gediz, E.İ., Nacitarhan, C., Minareci, E., Sadan, G. (2015). Antinociceptive Effect of Vardenafil on Carrageenan-Induced Hyperalgesia in Rat: Involvement of Nitric Oxide/Cyclic Guanosine monophosphate/ Calcium Channels Pathway. *Iran J Pharm Res*. 14 (4), 1137-1143.
- Gilron, I., Watson, C.P.N., Cahill, C.M., Moulin, D.E. (2006). Neuropathic pain: a practical guide for the clinician. *CMAJ*. 175 (3), 265–275.
- Gohil, K.J., Sahane, R.S., Kshirsagar, S.B. (2012). Ferulic Acid—A Comprehensive Pharmacology Of An Important Bioflavonoid. *IJPSR*. 3 (1), 700 -710.
- Grichnik, K.P, Ferrante, F.M. (1991). The difference between acute and chronic pain. *Mt Sinai J Med*. 58 (3), 217-20.
- Gupta, M., Majumdar, S., Sasmal, S., Mukherjee, A. (2012). HPLC Profiles of Standard Phenolic Compounds Present in Medicinal Plants. *IJPPR*. 4 (3), 162-167.
- Gürün, M.S. Bitkisel Tıp. (2004). *ANKEM Derg.* 18 (2), 133-136.
- Harput, Ş. (5-6 Haziran, 2010). Yeni ilaç geliştirme çalışmalarında tıbbi bitkiler. *Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, Zeytinburnu, İstanbul*, 45-46.
- Islam, S., Shajib, M.S., Ahmed, T. (2016). Antinociceptive effect of methanol extract of *Celosia cristata* Linn. in mice. *BMC complementary and alternative medicine*. 16 (1), 400.
- Jaiswal, S.R., Sontakke, S.D. (2012). Experimental evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of simvastatin and atorvastatin. *Indian J Pharmacol*. 44 (4), 475–479.
- Janicki, P.K., Jeske-Janicka, M. (1998). Relevance of nitric oxide in pain mechanisms and pain management. *Current Review of Pain*. 2 (4), 211-216.
- Jin, Y., Kim, J., Kwak, J. (2012). Activation of the cGMP/Protein Kinase G pathway by nitric oxide can decrease TRPV1 activity in cultured rat dorsal root ganglion neurons. *Korean J Physiol Pharmacol*. 16 (3), 211-217.

- Johnson, A.C., Meerveld, B.G. (2016). Chapter Ten - The Pharmacology of Visceral Pain. *Advances in Pharmacology*. 75, 273-301.
- Kamboj, V.P. (2000). Herbal Medicine. *Current Science*. 78 (1), 35-39.
- Kidd, B.L., Urban, L.A. (2001). Mechanisms of inflammatory pain. *Br J Anaesth*. 87 (1), 3–11.
- Kumar, N., Pruthi, V. (December, 2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnol Rep*. 4, 86-93.
- Li, J.X., Zhang, Y. (2012). Emerging drug targets for pain treatment. *Eur J Pharmacol*. 681 (1-3), 1-5.
- Liu, L., Yang, T., Bruno, M.J., Andersen, O.S., Simon, S.A. (2004). Voltage-Gated Ion Channels in Nociceptors: Modulation by Cgmp. *J Neurophysiol*. 92, 2323–2332.
- Lorenzetti, B.B., Ferreira, S.H. (June, 1996). Activation of the arginine-nitric oxide pathway in primary sensory neurons contributes to dipyrene-induced spinal and peripheral analgesia. *Inflamm Res*. 45 (6), 308–311.
- Lv, W.H., Zhang, L., Wu, S.J., Chen, S.Z., Zhu, X.B., Pan, J.C. (2013). Analgesic effect of ferulic acid on CCI mice: behavior and neurobiological analysis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 38 (21), 3736-41.
- Mansouri, M.T., Naghizadeh, B., Ghorbanzadeh, B., Farbood, Y. (2013). Central and Peripheral Antinociceptive Effects of Ellagic Acid in Different Animal Models of Pain. *Eur J Pharmacol*. 707 (1-3), 46-53.
- McEntire, D.M., Kirkpatrick, D.R., Dueck, N.P., Kerfeld, M.J., Smith, T.A., Nelson, T.J., Reisbig, M.D., Agrawal, D.K. (2016). Pain Transduction: A Pharmacologic Perspective. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 9 (8), 1069–1080.
- Merskey, H., Bogduk, N. (1994). *Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms* (second ed). Seattle: IASP Press, 210-214.
- Miyamoto, T., Dubin, A.E., Petrus, M.J., Patapoutian, A. (2009). TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One*. 4 (10).

- Mohamad, A.S., Akhtar, M.N., Khalivulla, S.I., Perimal, E.K., Khalid, M.H., Ong, H.M., Zareen, S., Akira, A., Israf, D.A., Lajis, N., Sulaiman, M.R. (2011). Possible participation of Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate/Protein Kinase C/ATP-Sensitive K⁺ Channels pathway in the systemic antinociception of Flavokawin B. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 108 (6), 400-405.
- Ocana, M., Baeyens, J.M., (1994). Role of ATP-sensitive K⁺ channels in antinociception induced by R-PIA, an adenosine A1 receptor agonist. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 350 (1), 57-62.
- Ocana, M., Cendan, C.M., Cobos, E.J., Entrena, J.M., Baeyens, J.M. (2004). Potassium channels and pain: present realities and future opportunities. *Eur J Pharmacol.* 500 (1-3), 203-219.
- Ossipov, M.H., Dussor, G.O., Porreca, F. (2010, Nov 1). Central modulation of pain. *J Clin Invest.* 120 (11), 3779–3787.
- Ozaki, Y. (1992). Antiinflammatory Effect of Tetramethylpyrazine and Ferulic Acid. *Chem. Pharm. Bull.* 40 (4), 954-956.
- Özeker, E. (1999). Phenolic compounds and their importance. *Anadolu, J. of AARI.* 9 (2), 114-124.
- Parvardeh, S., Sabetkasaei, M., Moghimi, M., Masoudi, A., Ghafghazi, S., Mahboobifard, F. (2018). Role of L-arginine/NO/cGMP/K_{ATP} channel signaling pathway in the central and peripheral antinociceptive effect of thymoquinone in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 21 (6).
- Patel, P.K., Sahu, J., Chandel, S.S. (2016). A detailed review on nociceptive models for the screening of analgesic activity in experimental animals. *International Journal of Neurologic Physical Therapy.* 2 (6), 44-50.
- Patestas, M.A., Gartner, L.P. (2006). *A Textbook of Neuroanatomy.* USA: Blackwell Publishing Ltd.
- Perimal, E.K., Akhtar, M.N., Mohamad, A.S., Khalid, M.H., Ming, O.H., Khalid, S., Tatt, L.M., Kamaldin, M.N., Zakaria, Z.A., Israf, D.A., Lajis, N., Sulaiman, M.R. (2010). Zerumbone-induced antinociception: involvement of the L-arginine-nitric

- oxide-cGMP-PKC-K⁺ATP channel pathways. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 108 (3), 155–162.
- Piccolo, G., Cassola, A.C., Cury, Y. (2003). Activation of peripheral ATP-sensitive K⁺ channels mediates the antinociceptive effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom. *Eur. J. Pharmacol.* 469, 57–64.
- Ping, C.P., Mohamad, T.A.S.T., Akhtar, M.N., Perimal, E.K., Akira, A., Ali, D.A.I., Sulaiman, M.R. (2018). Antinociceptive effects of Cardamonin in mice: possible involvement of TRPV₁, Glutamate, and Opioid Receptors. *Molecules.* 23 (9), 2237.
- Proestos, C., Kapsokefalou, M., Komaitis, M. (2008). Analysis of naturally occurring phenolic compounds in aromatic plants by Rp-Hplc and Gc-MS after silylation. *Journal of Food Quality.* 31 (3), 402-414.
- Reddi, D., Curran, N., Stephens, R. (2013). An introduction to pain pathways and mechanisms. *Br J Hosp Med (Lond).* 74 (12), 188-91.
- Robles, L.I., Barrios, M., Del Pozo, E., Dordal, A., Baeyens, J.M. (1996). Effects of K⁺ channel blockers and openers on antinociception induced by agonists of 5-HT_{1A} receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 295, 181-188.
- Sachs, D., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. (2004). Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway. *Proc Natl Acad Sci.* 101 (10), 3680-5.
- Saibabu, V., Fatima, Z., Khan, L.A., Hameed, S. (2015). Therapeutic potential of dietary phenolic acids. *Advances in Pharmacological Sciences.* 2015 (1), 823539.
- Salvemini, D., Misko, T.P., Masferrer, J.L., Seibert, K., Currie, M.G., Needleman, P. (1993). Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 90 (15), 7240–7244.
- Schaible, H.G. (2006). Peripheral and Central Mechanisms of Pain Generation. *HEP.* 177, 3–28.
- Schmidt, H.H.H.W. (1992). NO⁻, CO and OH endogenous soluble guanylyl cyclase-activating factors. *FEBS Lett.* 307 (1), 102-107.

- Schmidt, R.F. (1986). Nociception and Pain. *Fundamentals of Sensory Physiology*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Scholz, J. (2014). Mechanisms of chronic pain. *Mol Pain*. 10 (Suppl 1):O15
- Sen, S., Chakraborty, R., De, B., Ganesh, T., Raghavendra, H.G., Debnath, S. (2010). Analgesic and anti-inflammatory herbs: A potential source of modern medicine. *IJPSR*. 1 (11), 32-44.
- Sommer, C. (2010). Chapter 3.11 - Serotonin in pain and pain control. *Handbook of Behavioral Neuroscience*. 21, 457-471.
- Srinivasan, M., Sudheer, A.R., Menon, V.P. (2007). Ferulic Acid: Therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr*. 40 (2), 92-100.
- Staurengo-Ferrari, L., Zarpelon, A.C., Longhi-Balbinot, D.T., Marchesi, M., Cunha, T.M., Alves-Filho, J.C., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H., Casagrande, R., Miranda, K.M., Verri, W.A. (2014). Nitroxyl inhibits overt pain-like behavior in mice: role of cGMP/PKG/ATP-sensitive potassium channel signaling pathway. *Pharmacol Rep*. 66 (4), 691–698.
- Steeds, C.E. (2009). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*. 27 (12), 507-511.
- Tesser-Viscaíno, S.A., Denadai-Souza, A., Teixeira, S.A., Ervolino, E., Cruz-Rizzolo, R.J., Costa, S.K., Muscara, M., Casatti, C. (2009). Putative antinociceptive action of nitric oxide in the caudal part of the spinal trigeminal nucleus during chronic carrageenan-induced arthritis in the rat temporomandibular joint. *Brain Res*. 1302, 85-96.
- Türköz, Y., Özerol, E. (1997). Nitrik Oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*. 4 (4), 453-461.
- Uyar, M., Köken, İ. (2017). Kronik ağrı nörofizyolojisi. *TOTBİD Dergisi*. 16, 70–76.
- Vale, M.L., Rolim, D.E., Cavalcante, I.F., Ribeiro, R.A., Souza, M.H. (2007). Role of NO/cGMP/KATP pathway in antinociceptive effect of sildenafil in zymosan writhing response in mice. *Inflamm. res*. 56, 83–88.
- Vanderah, T.W. (2007). Pathophysiology of pain. *Medical Clinics of North America*. 91 (1), 1-12.

- Vanegas, H., Vazquez, H., Tortorici, V. (2010, May). NSAIDs, Opioids, Cannabinoids and the control of pain by the central nervous system. *Pharmaceuticals*. 3 (5), 1335–1347.
- Vashistha, B., Sharma, A., Jain, V. (2017). Ameliorative potential of ferulic acid in vincristine-induced painful neuropathy in rats: An evidence of behavioral and biochemical examination. *Nutr Neurosci*. 20 (1), 60-70.
- Venugopal, K., Swamy, M. (2005). Physiology of Pain. *Update in Anaesthesia*. 69-71.
- Visser, E.J., Davies, S. (2009). What is Pain? I: Terms, Definitions, Classification and Basic Concepts. *Australian Anaesthesia*. 29-33.
- Xu, Y., Lin, D., Yu, X., Xie, X., Wang, L., Lian, L., Fei, N., Chen, J., Zhu, N., Wang, G., Huang, X., Pan, J. (2016). The antinociceptive effects of ferulic acid on neuropathic pain: involvement of descending monoaminergic system and opioid receptors. *Oncotarget*. 7 (15), 20455–20468.
- Xu, Y., Zhang, L., Shao, T., Ruan, L., Wang, L., Sun, J., Li, J., Zhu, X., O'Donnell, J.M., Pan, J. (2013). Ferulic acid increases pain threshold and ameliorates depression-like behaviors in reserpine-treated mice: behavioral and neurobiological analyses. *Metab Brain Dis*. 28 (4), 571-83.
- Yamazumi, I., Okuda, T., Koga, Y. (2001). Involvement of potassium channels in spinal antinociceptions induced by fentanyl, clonidine and bethanechol in rats. *Jpn. J. Pharmacol*. 87, 268-276.
- Yao, H.M., Wang, G., Liu, Y.P., Rong, MQ, Shen, C.B., Yan, X.W., Luo, X.D., Lai, R. (2016). Phenolic acids isolated from the fungus *Schizophyllum commune* exert analgesic activity by inhibiting voltage-gated sodium channels. *Chin J Nat Med*. 14 (9), 661-670.
- Zareba, G. (2009). Phytotherapy for pain relief. *Drugs of Today*. 45 (6), 445-467.
- Zhang, A., Gao, Y., Zhang, X., Xu, C., Li, G., Liu, S., Lin, J., Li, X., Zhang, Y., Liu, H., Linag, S. (2010). Effect of sodium ferulate on the hyperalgesia mediated by P2X3 receptor in the neuropathic pain rats. *Brain Res*. 1313, 215-221.

Zulazmi, N.A., Gopalsamy, B., Min, J.C.S., Farouk, A.A.O., Sulaiman, M.R., Bharatham, B.H., Perimal, E.K. (2017). Zerumbone alleviates neuropathic pain through the involvement of L-Arginine-Nitric Oxide-cGMP-K⁺ ATP channel pathways in chronic constriction injury in mice model. *Molecules*. 22 (4), 555.

http-1: <https://www.practicalpainmanagement.com/patient/resources/understanding-pain/types-chronic-pain> (Eriřim Tarihi: 27.01.2019).

http-2: https://knowledge.statpearls.com/chapter/0/25910?utm_source=pubmed (Eriřim Tarihi: 27.01.2019).