

**NÖROPATİK AĞRI TEDAVİSİNDE  
KERSETİN VE FİSETİN  
FLAVONOİDLERİNİN PREGABALİN VE  
GABAPENTİNLE KOMBİNE  
KULLANILMASI**

**Doktora Tezi**

**Elif TAŞDEMİR**

**Eskişehir 2023**

**NÖROPATİK AĞRI TEDAVİSİNDE KERSETİN VE FİSETİN  
FLAVONOİDLERİNİN PREGABALİN VE GABAPENTİNLE KOMBİNE  
KULLANILMASI**

**Elif TAŞDEMİR**

**DOKTORA TEZİ**

**Farmakoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN**

**Eskişehir  
Anadolu Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Ocak 2023**

*Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 2004S017 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Elif TAŞDEMİR'in "Nöropatik ağrı tedavisinde kersetin ve fisetin flavonoidlerinin pregabalin ve gabapentinle kombine kullanımı" başlıklı tezi 18/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmakoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

### Unvanı Adı Soyadı

### İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Rana ARSLAN

.....

Üye: Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN

.....

Üye: Doç. Dr. Özlem ATLI EKLIÖĞLU

.....

Üye: Doç. Dr. Semra YİĞİTARSLAN

.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Hazal EKEN

.....

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ  
Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### NÖROPATİK AĞRI TEDAVİSİNDE KERSETİN VE FİSETİN FLAVONOİDLERİNİN PREGABALİN VE GABAPENTİNLE KOMBİNE KULLANILMASI

Elif TAŞDEMİR

Farmakoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ocak, 2023

Danışman: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Kersetin ve fisetin, antinosisepsiyon dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik etkiler gösterdiği bilinen ve daha önce nöropatik ağrı üzerindeki etkisi detaylı olarak çalışılmamış flavonoidlerdir. Bu tez çalışmasında, kersetin ve fisetinin tekli ve nöropatik ağrı tedavisinde kullanımı olan gabapentin ve pregabalın ile bir arada kullanımlarının nöropatik ağrı üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Sıçanlarda kronik konstrüksiyon sinir hasarı ile indüklenen nöropatik ağrı modeli geliştirilerek, çeşitli dozlarda (5, 10, 20 mg/kg) kersetin ve fisetinin hem tekli hem de pregabalın ve gabapentinle kombinasyonlarının anti-allodinik etkisi değerlendirildi. Her iki flavonoid de 10 ve 20 mg/kg dozlarında kontrol grubuna göre anlamlı etki göstermiştir. Bu flavonoidlerin etkili olan 10 mg/kg dozu ve anlamlı antiallodinik etkilerinin görülmediği 5 mg/kg dozları seçilerek gabapentin (50 mg/kg) ve pregabalın (15 mg/kg) ile kombine edilerek etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre; gabapentin ve pregabalınle kombine edilen gruplarımızda, 50 mg/kg gabapentin ve 15 mg/kg pregabaline göre anlamlı antiallodinik etki gösterdikleri belirlendi. Sonuç olarak; kombinasyon çalışmalarımızla nöropatik ağrı tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlar olan gabapentin ve pregabalının daha düşük dozlarda flavonoidlerle birlikte kullanımında etkinliğinin arttığı ve etki süresinin uzaması görülmüştür.

**Anahtar Sözcükler:** Fisetin, Kersetin, Nöropatik ağrı, Gabapentin, Pregabalın

## ABSTRACT

COMBINED USE OF QUERCETIN AND FICETIN FLAVONOIDS WITH PREGABALIN  
AND GABAPENTIN IN THE TREATMENT OF NEUROPATHIC PAIN

Elif TASDEMİR

Department of Pharmacology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, January, 2023

Supervisor: Prof. Dr. Rana ARSLAN

Quercetin and fisetin are flavonoids that are known to exert various pharmacological effects, including antinociception, and their effect on neuropathic pain has not been studied in detail before. In this thesis, it was aimed to investigate the effects of quercetin and fisetin alone and in combination with gabapentin and pregabalin, which are used in neuropathic pain treatment, on neuropathic pain. The anti-allodynic effect of quercetin and fisetin at various doses (5, 10, 20 mg/kg), both alone and in combination with pregabalin and gabapentin, was evaluated by developing a neuropathic pain model induced by chronic constrictive nerve injury in rats. Both flavonoids showed a significant effect compared to the control group at doses of 10 and 20 mg/kg. The efficacy of these flavonoids was investigated in combination with gabapentin (50 mg/kg) and pregabalin (15 mg/kg) by selecting an effective dose of 10 mg/kg and doses of 5 mg/kg without significant antiallodynic effects. According to the data obtained; In our groups combined with gabapentin and pregabalin, it was determined that they showed significant antiallodynic effects compared to 50 mg/kg gabapentin and 15 mg/kg pregabalin. As a result; In our combination studies, it has been observed that the efficacy of gabapentin and pregabalin, which are frequently used in the treatment of neuropathic pain, when used together with flavonides at lower doses, increases the effectiveness and prolongs the duration of action.

**Keywords:** Fisetin, Quercetin, Neuropathic pain, Gabapentin, Pregabalin

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum birçok konuda değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak gerek akademik gerekse sosyal hayatta bana ışık tutan kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Rana ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Güler yüzü ve samimiyeti ile görüş ve önerilerini paylaşarak doktora eğitimime katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Nurcan BEKTAŞ TÜRKMEN'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamızda yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Hazal Eken ve İlhem Dallalı'ye çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olup desteklerini hissettiren, hayatımdaki zorlukları kolaylaştıran, bana karşı daima sabırlı ve yol gösterici olan kıymetli ailem; annem, babam ve kardeşlerime çok teşekkür ederim. Var olmasıyla bile daima enerjimi artıran en büyük mutluluk kaynağım biricik oğluma çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimime verdiği bursla katkıda bulunan TÜBİTAK (BİDEB)'a teşekkür ederim.

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

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

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	3
2.2. Ağrı .....	3
2.1.1. Ağrının algılanması.....	3
2.2.1. Ağrının sınıflandırılması.....	6
2.2. Nöropatik Ağrı ve Genel Özellikleri.....	7
2.2.1. Nöropatik ağrının tedavisi.....	8
2.3. Flavonoidler .....	9
2.3.1. Flavonoidlerin farmakolojik özellikleri .....	11
2.3.2. Flavonoidlerin analjezik etkisi .....	14
2.3.3. Kersetin .....	17
2.3.3.1. Kersetinin farmakolojik etkileri .....	18
2.3.3.2. Kersetinin ağrı tedavisindeki değeri .....	20
2.3.4. Fisetin .....	24
2.3.4.1. Fisetinin farmakolojik etkileri.....	25

2.3.4.2. Fisetinin ağrı tedavisindeki değeri .....	29
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>31</b>
3.1. Kullanılan Kimyasallar .....	31
3.2. Kullanılan Cihazlar .....	31
3.3. Deney Hayvanları .....	31
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç uygulamaları.....	32
3.5. Deneysel Yöntemler .....	33
3.5.1. Kronik konsrüksiyon sinir hasarı (KKH)'na bağlı nöropati modelinin oluşturulması.....	333
3.6. Ağrı Eşiklerinin Değerlendirilmesi.....	34
3.6.1. Elektronik von Frey cihazı-mekanik allodini .....	34
3.6.2. Aktivite kafesi .....	34
3.7. İstatiksel Analiz .....	355
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>36</b>
4.1. Deneysel Nöropati Gelişimi .....	36
4.2. Anti-allodinik Aktivitenin Değerlendirilmesi .....	36
4.2.1. Kersetin ve gabapentinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi.....	336
4.2.2. Kersetin ve pregabalinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi.....	337
4.2.3. Fisetin ve gabapentinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi.....	339
4.2.4. Fisetin ve pregabalinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi.....	40
4.3. Aktivite Kafesi ile Lokomotor Aktivite Değerlendirilmesi.....	41
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>44</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>50</b>
<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>51</b>

**EKLER**

**ÖZGEÇMİŞ**

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar.....	8
--	---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Ağrı algılanması ve iletimi.....	4
Şekil 2.2. Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı.....	11
Şekil 2.3. Kersetinin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.4. Fisetinin kimyasal yapısı.....	25
Şekil 3.1. Aktivite kafesi testi aparatı.....	35
Şekil 4.1. Elektronik von Frey testinde nöropatik ağrı gelişiminin belirlenmesi.....	36
Şekil 4.2. Kersetin ve gabapentin+kersetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi.....	37
Şekil 4.3. Kersetin ve pregabalin+kersetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi.....	38
Şekil 4.4. Fisetin ve gabapentin+fisetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi.....	39
Şekil 4.5. Fisetin ve pregabalin+fisetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi.....	40
Şekil 4.6. Kersetin, Fisetin, Gabapentin ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (yatay hareketlilik).....	41
Şekil 4.7. Kersetin, Fisetin, Gabapentin ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (dikey hareketlilik).....	42
Şekil 4.8. Kersetin, Fisetin, Pregabalin ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (yatay hareketlilik).....	42
Şekil 4.9. Kersetin, Fisetin, Pregabalin ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (dikey hareketlilik).....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%MPE	: Maksimum olası etkinin yüzdesi
5-FU	: 5-Fluorourasil
5-HT	: Serotonin
AP-1	: Aktive edici protein-1
COX	: Siklooksijenaz
DHG	: Dorsal horn gangliyonu
ENaC	: Epitelyal sodyum kanalı
GSH	: Glutasyon
IL	: İnterlökin
IPF	: İdiyopatik pulmoner fibroz
KKH	: Kronik konstriksiyon siyatik sinir hasarı
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LOX	: Lipooksijenaz
LPS	: Lipopolisakkarit
MAO	: Monoaminoksidaz
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit
Nrf2	: Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör
PG	: Prostaglandin
PHN	: Postherpetik nevralji
PKC	: Protein kinaz C
PPAR	: Peroksizom proliferatör-aktive reseptörleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RPE	: Retinal pigment epiteli
s[Cl <sup>-</sup> ]	: Sitozolik klor iyonu konsantrasyonu
SNI	: Korunmuş sinir hasarı
SNL	: Spinal sinir hasarı
SNRI	: Serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleri
SOD	: Süperoksit dismutaz

TCA	: Trisiklik antidepressan
TLR	: Toll benzeri reseptörler
TNF- $\alpha$	: Tümör nekrozis faktör alfa
TrkB	: Tirozin kinaz B
TRP	: Transient reseptör potential
UV	: Ultraviyole

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nöropatik ağrı, periferik lifler ve merkezi nöronlar dahil olmak üzere somatosensoriyel sistemdeki bir lezyon veya hastalıktan kaynaklanan ağrıya denilmektedir (Crofford, 2015; Colloca vd., 2017; http-1). Günümüzde nöropatik ağrı tedavisinde; antiepileptik ilaçlar, trisiklik antidepresanlar (TCA), kannabinoid reseptör agonistleri, seçici serotonin ve noradrenalin gerilim inhibitörleri (SNRI) ve sodyum kanal blokörleri yer almaktadır. Ancak bu ilaçların kullanımları birçok yan etki ile ilişkilidir (Yücel ve Çimen, 2005; Singh vd. 2017; Taşdemir vd. 2019). Ayrıca, kontrol altına alınması zor, kompleks bir durum olan nöropatik ağrı uzun süreli tedavi gerektirmekle birlikte, tedavideki mevcut ilaçlarla maalesef düşük efikasite, tolerabilite gibi çeşitli problemlerle karşılaşmaktadır. Özellikle gabapentin ve pregabalin de birçok ülkede nöropatik ağrı tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır (Taşdemir vd., 2019). Ancak, klinik çalışmalarda bu ilaçlar ile en sık görülen yan etkiler, uyku hali (% 25'e kadar) ve baş dönmesi (% 46'ya kadar) dir. Ek olarak, her iki ajanın da ağız kuruluğu, viral enfeksiyon, pnömoni, idrar yolları enfeksiyonu kilo alımı veya periferik ödem gibi yan etkilere neden olabileceği belirtilmiştir (Nalamachu ve Morley-Forster, 2012; http-2).

Kronik nöropatik ağrının yükü; nöropatik semptomların karmaşıklığı, kötü sonuçlar ve zor tedavi kararları ile ilişkili görünmektedir. Daha da önemlisi, nöropatik ağrılı hastalarda artan ilaç reçeteleri ve hastaneye ziyaretler, ağrının kendisinden ve hastalıktan kaynaklanan morbidite nedeniyle yaşam kalitesi bozulmaktadır. Zorluklara rağmen, nöropatik ağrının patofizyolojisinin anlaşılmasındaki ilerleme, nöropatik ağrının yönetimine multidisipliner bir yaklaşım ihtiyacını vurgulayan yeni tanı prosedürlerinin ve kişiselleştirilmiş müdahalelerin gelişimini teşvik etmektedir (Colloca vd., 2017). Tedavinin gelişmesinde son yıllarda kaydedilen ilerlemeye rağmen ağrı için daha güvenli, etkili ve güçlü analjeziklere ihtiyaç duyulmaktadır (Calixto vd., 2000). Geleneksel tıpta ağrı kesici olarak kullanılan bitkiler üzerine yapılan araştırmalar, yeni analjezik ilaçların keşfinde üretken ve mantıklı stratejilerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Vongtau vd., 2004).

Fenolik bileşikler veya polifenoller, bitkiler alemindeki en yaygın madde gruplarından birini oluştururlar. Bütün bitki metabolizmalarında sekonder metabolit olarak bulunarak, bitkileri bazı zararlılara karşı korumada rolleri çok büyüktür (Lima

vd., 2014). Bu fenolik bileşiklerden olan flavonoidler; çok çeşitli olup, bitkilerde önemli ölçüde bulunmakta ve düşük toksisiteye sahiptirler. Bu nedenle yeni ilaç geliştirme çalışmaları için mükemmel bir potansiyel oluşturmaktadırlar (Chua, 2013). Flavonoidlerden fisetin ve kersetin farmakolojik aktiviteleri nedeniyle dikkat çekmektedir. Fisetin; çeşitli biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip, bitkisel kaynaklı içecek ve gıdalarda bulunan bir besin bileşenidir. Bu flavonolün; antitümör, hipolipidemik, nöroprotektif, anti-inflamatuar, antioksidan, antialerjik, kemopreventif etkilerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca, depresyon ve anksiyete gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde de faydalı olduğu belirtilmektedir (Zhao vd., 2015a; Pal vd., 2016; Kashyap vd., 2018; Gryniewicz ve Demchuk, 2019). Antidepresan ilaçların kronik nöropatik ağrı tedavisinde klinik olarak kullanıldıklarını göz önüne alırsak, fisetinin de klinikte kullanımı söz konusu olabilir.

Çalışmamızda kullandığımız diğer bir flavonoid ise kersetindir. Kersetin; elma, soğan, çay ve brassica sebzelerinin içinde yer aldığı birçok yiyecekte bulunan bir fenolik bileşiktir. Bu flavonoidin ise, kardiyovasküler koruma, antikanser, antialerjik aktivite, antiülser, antiviral, anti-inflamatuar etki, kataraktı önleme gibi insan sağlığı üzerine birçok yararı bulunmaktadır (Anjaneyulu ve Chopra, 2003).

Bu çalışma kapsamında, antinörotransmisyon dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktiviteler gösterdiği bilinen ancak daha önce nöropatik ağrı üzerinde detaylı olarak çalışılmamış olan fisetin ve kersetinin tekli ve gabapentin, pregabalın maddeleriyle bir arada kullanımlarının nöropatik ağrı üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Kombinasyonla denememizde, tedavide kullanılan ilaçların daha düşük dozda flavonoidlerle verilmesi sağlanarak etkinliğin artırılıp yan etkilerin azaltılmasını hedeflemekteyiz.

## 2. KAYNAK BİLGİSİ

### 2.1. Ağrı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği'ne göre ağrı; gerçek veya olası doku hasarıyla ilişkili veya buna benzer hoş olmayan bir duyuşsal ve duygusal deneyimdir (http-3). Ağrı süreci karmaşık bir olgudur. Uyarının gücüne, bireysel duyarlılığa ve ağrıya karşı bireysel dirence bağlıdır (Pistoia vd., 2013; Swieboda vd., 2013). Ayrıca psikolojik sıkıntılar, ağrı algısını şiddetlendirebilir, kronikleşmesine neden olabilir ve tedavisini zorlaştırabilir. Bu durumda, ağrının psikolojik sıkıntıya neden olduğu ve bu da ağrının devam etmesine katkıda bulunduğu bir kısır döngü ile sonuçlandığı belirtilmiştir. Bu nedenle ağrının 2 yönü vardır: altta yatan bir patolojik durumun uyarısı olan bir alarm zili olabilir veya orijinal tetikleyici, patoloji ortadan kaldırıldığında bile devam eden kendi içinde bir bozukluk haline gelebilir (Pistoia vd., 2013).

Ağrı; deride, eklemlerde ve birçok iç organda bulunabilen ağrı reseptörlerinin tahrişinden kaynaklanabilir. Ağrının nedeni ayrıca hem periferik sinirler hem beyin hem de omurilik olmak üzere sinir sistemine zarar verebilir veya dokulara zarar vermeden de ortaya çıkabilir (Swieboda vd., 2013).

#### 2.1.1. Ağrının algılanması

Ağrı, yalnızca vücudun durumuyla ilişkili, doğası gereği somatik değildir, çok boyutlu bir fenomendir. Bu nedenle, ağrının fizyolojik sürecine ek olarak, merkezi sinir sistemi tarafından karar verilen öznel algısı da önemlidir (Swieboda vd., 2013). Bilişsel ve duygusal faktörlerin ağrı algısı üzerinde şaşırtıcı derecede önemli bir etkisi vardır. Ağrının giderilmesi beklentisi plasebo etki de analjezinin önemli bir bileşeni olduğu belirtilmiştir (Benedetti vd., 2005). Negatif bir beklenti ile, opioid agonisti remifentanilin klinik dozunun analjezik etkisini tersine çevirebildiği klinik bir denemeye gösterilmiştir (Bingel vd., 2011). Klinik ve deneysel çalışmalar, dikkatin dağılması gibi basit bir psikolojik manipülasyonun bile ağrı algımız üzerinde güçlü bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir (Benedetti vd., 2005, Bingel vd., 2011, Bushnell vd., 2013).

Ağrı, nosiseptör adı verilen spesifik reseptörlerce algılanır ve bütün ağrı reseptörleri serbest sinir sonlanmalarıdır (Yağcı ve Saygın, 2019). Ağrı sinyalleri A-delta (A $\delta$ ) ve C nosiseptif sinir lifleri boyunca merkezi sinir sistemine iletilir (Bourne vd., 2014; Yağcı ve Saygın, 2019). C-liflerinin uçları, şiddetli mekanik, kimyasal, aşırı

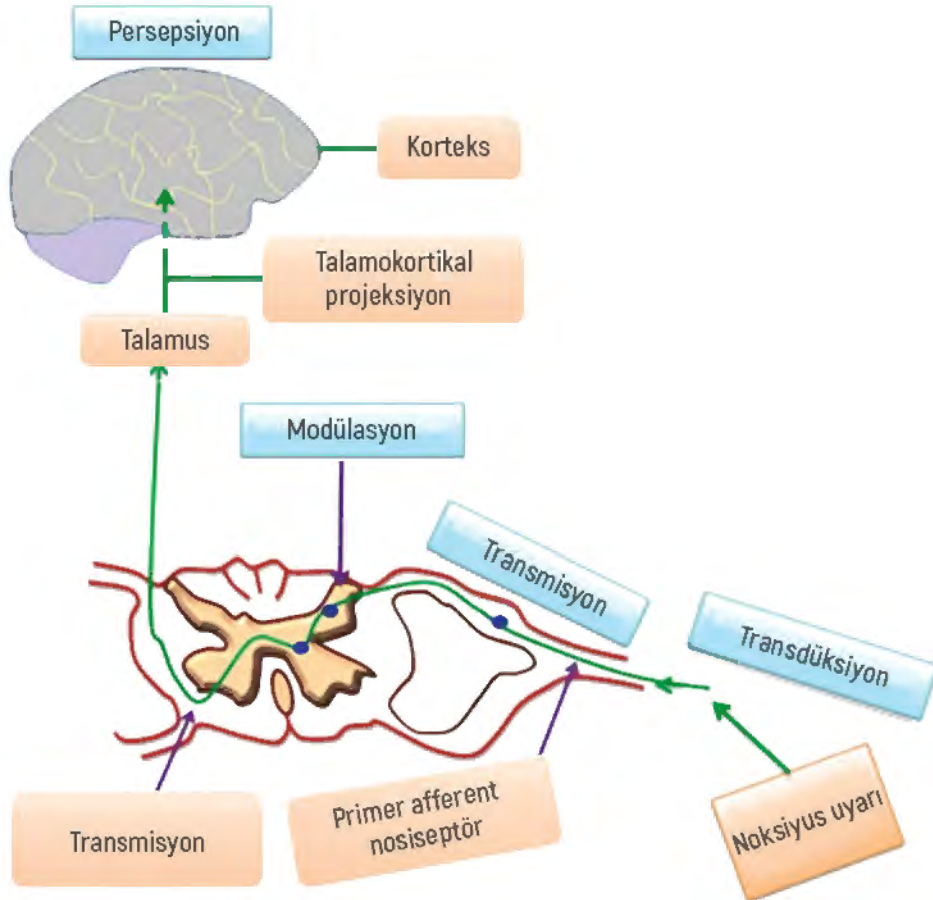
sıcak ve soğuk uyanlarla aktive olurken gecikmiş, inatçı ve yanıcı tipte ağrının taşınmasından sorumludur. Aδ liflerininse, mekanik ve termal olarak etkilendiği belirtilmiştir (Aydın, 2002; Yağcı ve Saygın, 2019). Ağrı 4 aşamada algılanır (Bkz. Şekil 2.1). Bunlar:

-*Trandüksiyon*; sinirlerin sensoryal uçlarında, stimulusun elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamaya denilmektedir.

-*Transmisyon* evresinde ise, impulsların sensoryal sinir sistemi boyunca yayıldığı aşama olduğu belirtilmiştir. Bu aşama; primer sensoryal afferent nöronların, elektriksel aktiviteyi spinal korda iletmesi, uyarının spinal korda, assendan ileti sistemi ile beyin sapı ve talamusa iletilmesi ve son olarak talamokortikal projeksiyonu kapsamaktadır.

-*Modülasyon*; nosiseptif transmisyonun nöral etkenlerle modifiye olması durumudur.

-*Persepsiyon*; bireyin psikolojisi ile etkileşimi ve subjektif emosyonel deneyimleri sonucu gelişen, uyarının algılandığı son aşamadır (Aydın, 2002).



Şekil 2.1. Ağrı algılanması ve iletimi (Raney vd., 2017)

Ağrı reseptörleri mekanik, termal veya kimyasal uyaranlara duyarlıdır. Bu reseptörlerle zararlı uyaran etkileşmesi, bir elektrik sinyaline işlenmesiyle sonuçlanır. Bu uyarı, sinir lifleri tarafından spinal korda iletilir (Swieboda vd., 2013). Spinal kord uyarıları değerlendirir, amplifiye veya modifiye eder. Spinal kord ağrı duyusu için bir entegrasyon merkezidir. Medulla spinaliste işlenmiş bu uyarılar, çıkan yollar vasıtasıyla beyinde yer alan üst merkezlere iletilir. Somatosensöriyel korteks ağrının şiddetini ve lokalizasyonunu belirlerken, limbik yapılar bu deneyime affektif (korku, öfke gibi) ve kognitif özellikler katmasının yanı sıra otonomik değişikliklerin de ortaya çıkmasına neden olur (uyku veya iştah değişiklikleri gibi). Bu iki supraspinal yapıdan, spinal korda işlenmiş ağrı sinyalleri ağrıyı modüle eden inen yollar aracılığıyla geri döner (Uyar ve Köken, 2017). Herhangi bir düzeydeki disfonksiyon, düzensiz, kalıcı ağrı üretme potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Fenton vd., 2015).

Nosiseptörlerin hücre gövdeleri dorsal kök ganglionunda yerleşmiş ağrı yolunun ilk nöronlarıdır. İkinci sıra nöronlar, spinal kordun dorsal boynuzunda yerleşiktir. Bu nöronların akson uzantıları spinotalamik yolu oluşturmaktadır. Spinotalamik yolun lateral kolunun ağrının uyarı lokalizasyonunu, yoğunluğu ve kalitesi ile ilişkili diskriminatif yönünü taşımada; medial kolunun ise ağrılı deneyimin hoş olmayan yönü ile ilişkili affektif yönü olabileceği düşünülmektedir. Üçüncü sıra nöronlar talamusta yer alır. Ağrının affektif kısmı, orta beyin retiküler formasyonu bağlantısı üzerinden talamusun intralaminer çekirdeklerine gelir, diskriminatif kısım ise talamusun ventral posterior lateral ve medial çekirdeklerine ulaşabileceği söylenilmektedir (Aydın, 2002; Yağcı ve Saygın, 2019).

Ağrının modülasyonunun; özellikle “inen monoaminerjik yollarla (monoaminler; serotonin (5-HT) norepinefrin ve dopamin)” sağlandığı bilinmektedir. Antinosiseptif yolların; noradrenalin (*locus coeruleus*), 5-HT (*raphe nukleus*) ve opioid reseptör aracılı yolların spinal kordda ağrıyı durdurduğu belirtilmiştir. 2000’li yıllardan itibaren inen ağrı yollarının sadece antinosiseptif olmadığı, özellikle nöropatik ağrılı hastalarda görüldüğü gibi pronosiseptif de olabileceği de belirtilmiştir. Motivasyon, anksiyete, korku ve duygu durumunu kontrol eden pek çok beyin bölgesinin, ağrı duyusunda önemli etkileri olduğu belirtilmiştir ([http-4](http://4)).

### 2.1.2. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı; mekanizması, başlama süresi ve kaynaklandığı bölge bakımından 3 kısımda incelenebilir: Mekanizmasına göre; nosiseptif ve nöropatik olmak üzere iki tiptir. Nosiseptif ağrı, zararlı uyarıların algılanmasıyla ilgili olduğundan, yalnızca yoğun uyarıların varlığında aktive olan yüksek eşikli bir ağrıdır (Woolf, 2010). Nöropatik ağrının mekanizmasında ise kaynak olarak nosiseptif bir uyarı yoktur. Sinirlerde, darbe ya da diyabet gibi metabolik bir hastalığın sonucunda ağrı algılayıcıların doğrudan etkilenmesiyle oluşur. Başlama süresine göre akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır (Yağcı ve Saygın, 2019): Akut ağrı, genellikle doku travmasına ve ilgili inflamatuvar süreçlere yanıt olarak, hoş olmayan, dinamik bir psikofizyolojik süreçtir (Clauw vd., 2019). Postoperatif ağrı bu tip ağrıya örnek verilebilir (Aydın, 2002). Kronik ağrı ise; 3-6 kadar ağrının geçmemesiyle, çoğu kez nosiseptif nitelikte olmakla birlikte uyarıcı işlevi geçtikten sonra, kişinin hayat kalitesini değiştiren, davranışların, psikolojinin etkilenmesiyle sempatik ve nöroendokrin fonksiyonların da yer aldığı kompleks bir tablodur (Aydın, 2002; Yağcı ve Saygın, 2019). Sadece bir yaralanma veya hastalık belirtisi olarak değil, ayrı bir hastalık varlığı olarak yeniden tanımlanmasını desteklenmektedir (Clauw vd., 2019). Kronik ağrı durumları, bir arada var olan psikososyal faktörlerden etkilenen üç tip ağrı patofizyolojisi (yani nosiseptif, nöropatik ve merkezi ağrı/merkezi duyarlılık) ile karakterize edilir (Clauw vd., 2019; Cohen vd., 2021). Negatif risk/kırılganlık faktörleri (örn. duygudurum veya uyku bozuklukları) ve pozitif dayanıklılık/koruyucu faktörler (örn. sosyal/kişilerarası ilişkiler ve aktif başa çıkma), hastaların benzersiz ağrı deneyimlerini belirlemek için ağrı nörobiyolojisi ile etkileşime girdiği belirtilmiştir (Clauw vd., 2019).

Kaynaklandığı bölgeye göre ağrı; somatik, viseral, sempatik ve periferik olarak 4 kısma ayrılır (Yağcı ve Saygın, 2019). Somatik ağrı; somatik sinirlerden kaynaklanan, ani başlayıp iyi lokalize edilebilen keskin özellikte bir ağrı tipi olarak ifade edilirken viseral ağrı; iç organlardan kalkan ağrılı uyarılar, otonom sisteme ait afferent yollarla taşınırlar. Kolon, rektum ve mesaneden kalkan uyarılar sakral parasempatik sinirlerle m. spinalise taşınır. Farenks, trakea ve ösefagusun üst kısmından kalkan uyarılar, glossofaringeus ve vagus sinirleri ile geri kalan bütün organlardan kalkan uyarılar sempatik sinirlerle medulla spinalise taşınırlar. Nedenleri arasında; kimyasal iritanlar, organların ani gerilmesi, ağrılı kasılmalar ve kan akımının azalmasının olduğu belirtilmiştir. Viseral ağrı yaygın, lokalizasyonu güç, yansıyan tipte olabilir. Kan basıncı

ve nabız sayısında değişme, kas rijiditesi ve hiperestezi ile birlikte olduğu vurgulanmıştır. Sempatik ağrı, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ile ortaya çıkan damarsal kökenli ağrılar, kompleks rejyonal ağrı sendromu ve kozaljiler örnektir. Periferik ağrı ise; kaslar, tendonlar veya periferik sinirlerin kendinden köken alabileceği belirtilmiştir (Aydın, 2002).

## 2.2. Nöropatik Ağrı ve Genel Özellikleri

Nöropatik ağrı, periferik lifler ve merkezi nöronlar dahil olmak üzere somatosensoryel sistemdeki bir lezyon veya hastalıktan kaynaklanan ağrıya denilmektedir (Crofford, 2015; Colloca vd., 2017; http-1). Nöropatik ağrının birçok nedeni tanımlanmıştır ve yaşlanan küresel nüfus, artan diyabet insidansı ve kemoterapiden sonra kanserden sağ kalım oranının artması ile nedeniyle insidansının artması muhtemeldir. Genel popülasyonun %7-10'unu etkilediği bildirilmiştir (Colloca vd., 2017). Nöropatik ağrı örnekleri arasında ağrılı polinöropati, postherpetik nevralsi (PHN), trigeminal nevralsi ve inme sonrası ağrı bulunur (Baron vd., 2010; Raney vd., 2017). Klinik olarak, nöropatik ağrı, spontan devam eden veya ateş eden ağrı ve zararlı veya zararlı olmayan uyaranlardan sonra uyarılmış, güçlendirilmiş ağrı tepkileri ile belirgin olduğu rapor edilmiştir (Baron vd., 2010).

Nöropatik ağrının belki de en önemli 3 karakteristik özelliğinin karıncalanma (veya iğne batma), yanma (veya sıcaklık hissi) ve şimşek çakar gibi (elektriksel çok hissi) bir ağrı olduğu kaynaklarda belirtilmiştir (Gierthmühlen ve Baron 2016; Gilron vd., 2015; Raney vd., 2017). Başlıca semptomları; hiperaljezi, allodini, hiperestezi, hipoestezi, dizestezi, parestezi ve hiperpatidir (Aydın, 2002; Taşdemir vd., 2019; Yücel ve Çimen, 2005). Bu tür ağrının varlığında, kanıtlanabilir bir lezyonun (görüntüleme, nörofizyoloji testleri, biyopsi sonuçları, laboratuvar testlerinde görülen) veya yerleşik tanı araştırmalarını karşılayan bir hastalığın (inme, vaskülit, diyabet, zona) var olduğu belirtilmiştir (Crofford, 2015). Diyabetik nöropati, PHN ve radikülopati gibi en yaygın durumlarla birlikte kronik ağrının yaklaşık %15-25'inin nöropatik olduğu belirtilmiştir (Cohen vd., 2021). Gerçekten de birçok literatürde, uyarıcı (eksitatör) ve engelleyici (inhibitör) somatosensoryal sinyalleşme arasındaki dengesizlikler, iyon kanallarındaki değişiklikler ve merkezi sinir sisteminde ağrı mesajlarının modüle eden yollardaki değişkenliğin tümünün, nöropatik ağrı ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (Colloca vd., 2017). Nöropatik ağrı nedenleri genel olarak iki gruba ayrılır:

-Periferik nedenler; travma/ameliyat/basınç nedeniyle ikincil hasarlar, metabolik bozukluklar, enfeksiyonlar (HIV, akut herpes zoster veya PHN), bazı otoimmün hastalıklar (Guillain-Barre sendromu), bazı maligniteler, toksin/ilâç/alkol nedeniyle oluşan ikincil hasarlar, damar hastalıkları ve beslenme yetersizlikleridir.

-Merkezi nedenler; vasküler (inme), travmatik durumlar (omurilik lezyonları), nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson Hastalığı), bazı otoimmün hastalıklar (multipl skleroz), bazı inflamatuvar durumları (transvers miyelit) ve tümörlerdir (Yücel ve Çimen, 2005 Taşdemir vd., 2019; Cohen vd., 2021). Havadaki değişikliklerin nöropatik ağrı alevlenmesine neden olabileceği de bildirilmiştir (Masuda vd., 2017)

### 2.2.1. Nöropatik ağrının tedavisi

Sonradan çıkan antidepresanlar, selektif SNRI'lar, TCA'lara kıyasla ekonomik bir dezavantaj olmadan fayda sağladığı ve azaltılmış toksisiteye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Pregabalin ve gabapentin, diyabetik nöropati ve PHN'de etkilidir. Ayrıca, opioidler (tramadol ve buprenorfin) ile ilgili yeni bilgilerin de nöropatik ağrının yönetiminde faydaları olduğu önerilmekte ve hastalık seyrinde kullanımlarına olan ilgisini arttırdığı belirtilmiştir (Davis, 2007). Ancak, nöropatik ağrının opioid ilâçlara ve nörolitik işlemlere nosiseptif ağrıdan daha az yanıt verdiği de bildirilmiştir (Aydın, 2002). Günümüzde tedavi paradigmaları, sıralı tekli ilâç denemelerinden çoklu ilâç tedavilerine geçmektedir. İlaç seçenekleri artık sadece etkililiğe değil, aynı zamanda toksisiteye ve ilâç etkileşimlerine de dayanmaktadır. Bu nedenle, SNRI'lar ve gabapentin/pregabalin popüler hale gelmiştir, ancak etkinliğin TCA'lardan daha iyi olmadığı da belirtilmiştir. Çoklu ilâç tedavisinde acil bir tedavi paradigması araştırması haline gelen çoklu ilâç tedavilerine ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır. (Davis, 2007). Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan ilâçlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Finnerup vd., 2015; Gilron vd., 2015; Javed vd., 2018; Murnion, 2018; Taşdemir vd., 2019).

**Tablo.2.1.** Nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan ilâçlar

Önerilen	İlaçlar
Birinci sıra ilâçlar	Antiepileptikler, Gabapentin, Pregabalin, Trisiklik antidepresanlar-Amitriptilin SNRI-Duloksetin, Venlafaksin
İkinci sıra ilâçlar	Tramadol Kapsaisin bantları (%8) Topikal lidokain (%5)
Üçüncü sıra ilâçlar	Opiyatlar

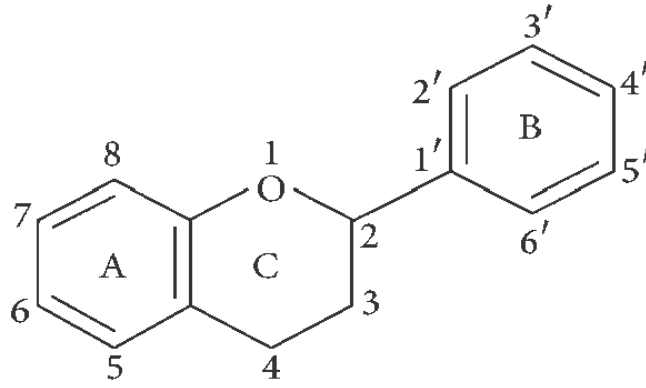
PHN, yaşlılar ve bağışıklığı baskılanmış olanlar da dahil olmak üzere savunmasız popülasyonları orantısız olarak etkileyen potansiyel olarak zayıflatıcı ve sıklıkla tedavi edilmeyen bir nöropatik ağrı formudur. Hastaların yaklaşık %10'unda, aynı etkilenen bölgede döküntü başladıktan sonra 3 aydan fazla devam eden ağrı olarak tanımlanan PHN gelişir. Bu durumda TCA'lar, gabapentinoidler ve güçlü opioidler etkilidir. Ancak, bu ilaçların birçok hastada, özellikle de önemli tıbbi komorbiditeleri veya ileri yaşları olanlarda, kullanımlarını sınırlandırabilen sistemik advers olaylarla da ilişkili olduğu belirtilmiştir. Antikonvülsan gabapentin ve pregabalin,  $\alpha 2\text{-}\delta$  proteinlerine bağlanır, burada voltajlı kalsiyum kanal blokerleri olarak işlev görürler (Nalamachu ve Morley-Forster, 2012; Taşdemir vd. 2019). Bu kanalların modülasyonu, sinir uçlarına kalsiyum girişini azaltır, bu da birkaç uyarıcı nörotransmitterin salınımının azalmasına neden olur (Lopez-Trigo ve Sancho, 2006). Bu şekilde merkezi ağrı yollarını inhibe ederler. Bu ajanların her ikisi de aynı reseptör bölgesinde etki gösterse de, pregabalin gabapentinden daha öngörülebilir ve doğrusal bir farmakokinetik profil sunabildiği belirtilmiştir (Nalamachu ve Morley-Forster, 2012). Pregabalinin, plazma proteinlerine bağlanmadığı, karaciğer metabolizmasının olmadığı ve böbrekler yoluyla atıldığı belirtilmiştir. Bu özelliklere dayanarak diğer ilaçlarla birkaç etkileşim beklenebilir. Klinik çalışmalarda, pregabalinin 150-600 mg / gün arasında değişen dozlarda PHN'de ve ağırlı diyabetik nöropatide etkili olduğu gösterilmiştir. Pregabalinin analjezik etkileri tedavinin ilk birkaç gününde ortaya çıktığı ve zamanla devam ettiği de belirtilmiştir (Lopez-Trigo ve Sancho, 2006). TCA tedavisinde olduğu gibi, bu ajanlarla olan advers olaylar bazı hastalarda kullanımlarını sınırlandırabilir. Klinik çalışmalarda gabapentin ve pregabalin ile en sık görülen yan etkiler uyku hali (%25'e kadar) ve baş dönmesi (%46'ya kadar) dir. Ek olarak, her iki ajanın da ağız kuruluğu, viral enfeksiyon, pnömoni, idrar yolları enfeksiyonu, kilo alımı veya periferik ödeme neden olabileceği belirtilmiştir (Nalamachu ve Morley-Forster, 2012).

### **2.3. Flavonoidler**

Flavonoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunan doğadaki en önemli organik bileşiklerdir (Faggio vd., 2017; Bai vd., 2019). İlk olarak 1930 yılında portakaldan izole edildiği belirtilmektedir. O zamanlar yeni bir vitamin sınıfının üyesi olduğuna inanılmış ve P vitamini denilmiştir. Daha sonra bu yeni maddenin bir flavonoid (rutin) olduğu ve şimdiye kadar 10000'den fazla çeşidinin tanımlandığı anlaşılmıştır (Kumar ve Pandey,

2013; Kozłowska ve Szostak-Wegierek, 2014). Bu bileşikler Latince sarı anlamına gelen “flavus” sözcüğünden türetilerek flavonoid adını aldığı rapor edilmiştir (Kahraman vd., 2002). Fenolik bileşiklerin enfeksiyon, yaralanma ve ultraviyole (UV) radyasyon gibi stres koşullarına tepki olarak bitkinin normal gelişimi süresince sentezlendiği bilinmektedir (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2009). Çoğu flavonoid, bitkilerde glikozitler veya karbonhidrat grupları şeklinde bulunur ve kısmen serbest formdadır. Bitkilerin çoğunda bitki büyümesi, gelişimi ve çiçeklenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çiçeklerdeki flavonoidlerin işlevi, bitki tozlaştırıcıları için çekici renkler sağlamak iken, yapraklarda örneğin mantar patojenlerinden ve UV-B radyasyonundan koruyarak bitkinin fizyolojik hayatta kalmasını sağlamaktır. Bitkilerdeki diğer görevlerinin ise; fotosensitizasyon, enerji transferi, bitki büyüme hormonlarının ve büyümenin düzenlenmesi, solunumun ve fotosentezin kontrolü, morfogenez ve cinsiyet tayini ile ilgili olduğu belirtilmektedir (Cushnie ve Lamb, 2005; Kumar ve Pandey, 2013; Bai vd., 2019).

Flavonoidlerin, 2-fenilkromon (flavon) bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Flavonun kimyasal yapısı, C olarak adlandırılan bir heterosiklik 4H-piran halkası aracılığıyla bağlanan A ve B adlı iki fenil halkasından oluşan 15 karbonlu bir iskelettir (Bkz. Şekil 2.2). Ayrıca flavonoidler, flavonların izomerlerini ve bunların hidrojenlenmiş ürünlerini de kapsamaktadır (Kumar ve Pandey, 2013; Bai vd., 2019). Hidroksil türevleri çoğunlukla sarıdır (Bai vd., 2019). Flavonoidler sıklıkla 3, 5, 7, 2, 3', 4' ve 5' pozisyonlarında hidroksillenmektedir (Kumar ve Pandey, 2013). Flavonlar (örn., flavon, apigenin ve luteolin), flavonoller (örn. kersetin, kamferol, mirisetin ve fisetin), flavanonlar (örn., flavanon, hesperetin ve naringenin) ve diğerleri gibi çeşitli sınıflara ayrılabilir (Kumar ve Pandey, 2013). Bu bileşikler bir keton karbonil grubuna sahiptir ve birinci alkalın oksijen atomu nedeniyle güçlü asitlerle tuzlar oluşturabilir (Bai vd., 2019).



**Şekil 2.2.** Flavonoidlerin temel kimyasal yapısı (Kumar ve Pandey, 2013)

Gıdalardaki flavonoid içeriği mevsime göre değişiklik göstermektedir. Farklı hasat dönemlerinde (Mayıs, Temmuz ve Eylül) toplanan çaylardan yapılan bir çalışmada en yüksek fenolik madde içeriğinin Mayıs dönemi çaylarında olduğu tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla Temmuz ve Eylül dönemi izlemiştir (Türkmen ve Velioğlu, 2007). Ortalama yiyeceklerle flavonoid alımının 26 mg/gün olduğu belirlenirken, predominant flavonoidin kersetin olduğu belirtilmiştir. Alınan esas kaynakları; çay (%61), soğan (%13) ve elma (%10) oluşturmaktadır. Bunun yanında Akdeniz kültüründe 10-20 mg/L flavonoid içeren kırmızı şarabın önemli bir kaynak oluşturduğu belirlenmiştir (Çimen, 1999). Soya fasulyesi, yer fıstığı, hardal, pirinç, susam, zeytin, soğan, karabuğday, patates, kırmızı biber, lahana, marul, yaban mersini, goji beri, çilek, kiraz, limon, portakal, greyfurt, yulaf, zeytin, propolis, bal gibi sık tüketilen gıdaların flavonoid içerdiği de bilinmektedir (Çimen, 1999; Kahraman vd., 2002; Cushnie ve Lamp, 2005; Kumar ve Pandey, 2013; Kozłowska ve Szostak-Wegierek, 2014; Basu ve Basu 2020).

### 2.3.1. Flavonoidlerin farmakolojik özellikleri

Flavonoidler; kanser, nörodejeneratif veya kardiyovasküler hastalık gibi çeşitli hastalıklara karşı olumlu etkileri olan güçlü antioksidanlar olarak bilinen bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir (Faggio vd., 2017). Bu etkilerin yanı sıra; antiviral, antifungal, antibakteriyel, antialerjik, vazodilatasyon, östrojenik aktivite, anti-inflamatuar, anti-ateroskleröz, hücrel immünitinin stimülasyonu gibi etkilerinin olduğu da belirtilmiştir (Çimen, 1999; Kahraman vd., 2002; Cushnie ve Lamb, 2005; Sarbu vd., 2019).

Arjantin halkı tarafından enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan *Tagetes minuta* (kersetagetin-7-arabinozil galaktosit içeren) bitkisinin flavonoid bakımından zengin olduğu rapor edilmiştir. Flavon yapısında olan baicalein'in bu bitkinin antimikrobiyal etkilerinden büyük ölçüde sorumlu olduğu bildirilmektedir (Cushnie ve Lamb, 2005). İlginç bir şekilde, bazı flavonoidler de antiviral aktiviteye sahiptir. Spesifik olarak, apigenin, luteolin, amentoflavon, kersetin, daidzein, puerarin, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, gallokateşin gallat ve kamferol'ün SARS-CoV 3CLpro'nun proteolitik aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Jo vd., 2020).

Antioksidan ve şelatlayıcı özellikleri nedeniyle flavonoidlerin reaktif oksijen türlerini (ROS) etkisiz hale getirdiğinden ve bu şekilde plazma düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonuna karşı koyduğu ve damar endotelinin inflamasyonunu iyileştirdiğinden bahsedilmiştir (Kozłowska ve Szostak-Wegierek 2014). ROS'ların flavonoidlerce azaltılması trombositlerin, kardiyovasküler hastalıkların, ağrı ve trombozun hiperaktivasyonu riskini azaltmaktadır (Vazhappily vd., 2019). Aktifleştirilmiş trombositler, immün cevabı modüle eden sitokinleri ve kemokinleri salıverir ve onların bazı hiperaktivasyon vakalarında, inflamatuvar hastalıkların patogenezine ilişkili olabildiği rapor edilmiştir. Bazı flavonoidlerin, anti-trombosit agregasyon etkilerine sahip olduğu belirtilmiştir (Faggio vd., 2017). Ayrıca flavonoidlerin, genellikle koroner arter ve vasküler hastalıkların gelişimi ile ilişkili olan endotel disfonksiyonunu da hafifletebildiği edinilen bilgiler arasındadır. Endotelde aşırı doku faktörü varlığını inhibe ederek de ateroskleroz ve aterotrombotik hastalık riskini azalttığı bildirilmiştir (Vazhappily vd., 2019). İlâveten flavonoidler, ROS üretimini arttıran enzimler gibi ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz ve lipooksijenaz (LOX)'ın aktivitesini azaltmaktadır. Flavonoidlerin anti-arteriyosklerotik etkisinin, aynı zamanda, kan damarı çeperindeki inflamasyonun lökosit akımını inhibe ederek azaltılması ile de ilgili olduğu belirtilmiştir. Bunların yanı sıra, 15-LOX ve siklooksijenaz (COX, özellikle COX-2) gibi enzimlerin aktivitesini de azalttığı bilinmektedir. Bu enzimler, araşidonik asitten inflamasyona aracılık eden prostaglandin (PG)'ler ve lökotrienlerin oluşumuna katılmaktadır. Bunların salgılanmalarındaki düşüş, PGE<sub>2</sub>, lökotrien B<sub>4</sub> ve tromboksan A<sub>2</sub> sentezinin azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Bunun sonucunda da inflamasyon ve trombosit agregasyonunda azalma görülür. Bu enzimlerin inhibisyonunun ayrıca LDL'nin oksidasyona karşı korunmasına da yol açtığı ve kapiller basıncı normale döndürdüğü belirtilmiştir (Kozłowska ve Szostak-Wegierek, 2014).

Diğer taraftan, flavon türevlerinin LOX'a karşı orta ila zayıf inhibisyon gösterdiği belirtilmiştir (Shoaib vd., 2019). Ayrıca flavonoidlerin antiateromatoz etkisinin 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A redüktaz aktivitesinin baskılanmasından kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Kozłowska ve Szostak-Wegierek, 2014).

Birçok çalışma flavonoidlerin antidiyabetik özelliklere sahip olduğunu ve sadece iyi bilinen antidiyabetik ve hipoglisemik aktiviteleri değil, aynı zamanda diyabetik komplikasyonların tedavisinde de aktivite sergilediğini göstermiştir. Apigenin, baicalein ve kateşinin esas olarak anti-oksidasyon yoluyla kan glukozunu azalttığı; hesperidinin diyabetik nöropatiye iyi geldiği belirtilmiştir. Ayrıca, glisiriza flavonoidlerinin de gebelik diyabetes mellitusu üzerinde önemli bir etkisinin olduğu; kersetinin ise, kan-beyin bariyerini geçme ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirme avantajından yararlandığı rapor edilmiştir (Bai vd., 2019).

Peroksizom proliferatör-aktive reseptörleri (PPAR), diyabette lipit metabolizması çalışmasında kritik bir hedefdir. Vücuttaki kan şekeri dengesinin düzenlenmesine katılırken, PPAR adipositlerin farklılaşmasını ve oluşumunu teşvik edebilir ve insülin duyarlılığını artırabilir (Bai vd., 2019). Hesperidin, adenosin monofosfat ile aktive olan kinaz ve PPAR sinyal yollarına aracılık ederek lipit metabolizmasını ve glikoz metabolizmasını düzenlemektedir. Hesperidin ile zenginleştirilmiş diyet takviyelerinin, postprandiyal hiperglisemi ve hiperlipidemi gibi semptomları önemli ölçüde iyileştirebildiği belirtilmiştir (Xiong vd., 2019). *Morus nigra*'daki izoprenillenmiş flavonoidlerin PPAR $\gamma$  üzerine agonistik etki gösterdiği de araştırmacıların elde ettikleri veriler arasındadır (Xu vd., 2018).

Tüm flavonoidler, 3-4-dihidroksi konfigürasyonu ile antioksidan aktiviteye sahiptir. Flavonoidler ve diğer bitki fenolikleri süperoksit, alkoksil, peroksil ve nitrik oksit (NO) gibi radikalleri temizleme, demir ve bakır şelasyonu,  $\mu$ -tokoferol rejenerasyonu fonksiyonlarına sahiptir. Fosfolipaz-A<sub>2</sub>, COX, LOX enzimlerinin inhibisyonu ile anti-inflamatuar özellik gösterirler. Ayrıca, ksantin oksidaz, glutatyon (GSH) redüktaz, nikotinamid adenin dinükleotid hidrit oksidaz ve protein kinaz enzimlerini inhibe ettikleri de belirtilmiştir (Çimen, 1999).

Flavonoidlerin *in vitro* veya hüresel modellerde anti-inflamatuar etkilerini; eikozanoidler, sitokinler, adezyon molekülleri ve C-reaktif protein gibi farklı pro-inflamatuar mediyatörlerin sentezinin ve aktivitelerinin inhibisyonu yoluyla gösterdiği belirtilmiştir. Flavonoidlerin moleküler aktiviteleri, nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) ve

aktive edici protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin inhibisyonunun yanı sıra nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktörün (Nrf2) aktivasyonunu içerir. (Serafini vd., 2010).

Flavonoidler, muhtemelen nörodejeneratif hastalıklarda yer alan inflamatuvar yanıtları modüle etme yetenekleriyle ilişkili nöroprotektif potansiyele sahiptir. Aslında saf flavonoidler (örn., kersetin, genistein, hesperetin, epigallokateşin-3-gallat) veya zenginleştirilmiş ekstraktlar, pro-inflamatuvar sitokinlerin (interlökin (IL)-6, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), IL-1 ve COX-2) ekspresyonunu azaltabildiği, inflamatuvar belirteçleri down-regüle edebildiği ve sinir hasarını önlediği belirtilmiştir (Spagnuolo vd., 2018).

### **2.3.2. Flavonoidlerin analjezik etkisi**

Farmakoterapi ağrı tedavisi için aktif bir araştırma alanıdır. Bu sorunu tedavi etmek için etkili ilaçlar vardır, ancak istenmeyen yan etkilerden arındırılmış alternatif tedaviler bulmaya da ihtiyaç vardır. Bu noktada flavonoidler gerek çeşitliliği gerekse biyolojik aktif bileşikler olması sebebiyle bize çok geniş bir pencereden bakmamız için olanak sağlamaktadır. Konuyla ilişkili olarak; sentetik bir flavonoid bileşik olan 3,3-dibromoflavanon (31)'in, seçici  $\mu$  opioid ligand olarak inhibisyon gösterdiği belirtilmiştir. Bu bileşiğin asetik asite bağlı nosisepsiyon, sıcak plaka ve formalin testlerinde (10 mg/kg ve 30 mg/kg'da) antinosiseptif aktivite gösterdiği kaydedilirken, test edilen dozlarda farelerde sedatif, anksiyolitik, motor koordinasyon etkileri veya gastrointestinal geçişin inhibisyonu gibi etkileri göstermemesi önemlidir (Higgs vd., 2013).

Flavonoidlerin murin modellerinde nöropatik ağrıyı hafiflettiği bildirilmiştir (Basu ve Basu, 2020). Bu bileşiklerin kannabinoidlere kimyasal yapı olarak benzediği ve bu sebeple bazı kannabinoid reseptörlerle direkt olarak etkileşebileceği belirtilmiştir. Hidroksietil rutosid ve gossipin gibi bazı flavonoidlerin antinosiseptif aktivitesi bulunmaktadır (Anjaneyulu ve Chopra, 2003). Ayrıca, *Pistacia integerrima*'dan izole edilen flavonoidlerin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada asetik asitle indüklenen writing testinde doza bağımlı bir şekilde anti-hiperaljezik etki gösterdiği kaydedilmiştir. Aynı şekilde formalin testinin her iki fazında da benzer etkileri göstermiştir. Bununla birlikte, nalokson uygulanması, indüklenen antinosiseptif etkileri ortadan kaldırmamıştır

ve bu nedenle opioid reseptörü tutulumunun bulunmadığını düşündürmüştür (Rauf vd., 2016).

Yapı-aktivite ilişkisi yönünden flavonoidlerin nosiseptif açıdan değerlendirildiği bir çalışmada flavon türevlerinin, tüm nosisepsiyon modellerinde analjezik etki (abdominal kıvrılma sayısında anlamlı ve orta derecede azalma, her iki fazda pençe yalama yanıt süresinde artış ve nosisepsiyon modellerinde gecikme süresinde önemli bir artış) gösterdiği belirtilmiştir. Diğer taraftan bu antinoseptif yanıtın, opioid reseptör antagonisti ile ön uygulama yapıldığında ise, önemli ölçüde azaldığı kaydedilmiştir. Bu da opioidlerjik sistemin antinoseptif etkiye olası katılımını düşündürdüğü bildirilmiştir (Shoaib vd., 2019).

Naringenin, narenciye meyvelerinde bulunan bir flavonoiddir. Bu bileşiğin (100 veya 200 mg/kg, oral uygulama), farelerin bir sıcak plaka ve bir tail-flick ünitesi tarafından üretilen termal stimülasyona reaksiyon süresini önemli ölçüde geciktirdiği ve farelerde asetik asite bağlı kıvrılma tepkisini azalttığı gösterilmiştir (Chung vd., 2019). Başka bir çalışmada da naringenin (50 mg/kg), formalin testinin her iki fazı da dahil olmak üzere test edilen tüm uyaranların neden olduğu akut ağrı davranışlarını azalttığı ve bu bileşiğin anti-inflamatuar aktivitesinin yanı sıra doğrudan bir nosiseptör modülatör etkisi olduğu gösterilmiştir. Buna göre, naringenin karragen, kapsaisin ve PGE<sub>2</sub>'nin neden olduğu mekanik uyarana karşı artan duyarlılığı da inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu flavonoidin etki mekanizmalarının; pençe derisinde karagenan kaynaklı oksidatif stres, hiperaljezik sitokinlerin (IL-33, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ) üretiminin ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunun inhibisyonu olarak belirtilmiştir. Ayrıca karagenan kaynaklı mekanik hiperaljezi ve nötrofil alımını engellemek için analjezik NO-siklik guanozin monofosfat - protein kinaz G - adenosin trifosfat duyarlı K (+) kanal sinyal yolunu aktive ettiği de elde edilen verilerin arasında yer almıştır (Pinho-Ribeiro vd., 2016).

Sıçanlardaki nöropatik ağrı modellerinden korunmuş sinir hasarı (SNI) modelinin uygulandığı bir çalışmada, flavonoidlerce zengin *Sanguis draxonis* (kırmızı reçine türü)'ten elde edilen ekstre sıçanlara 14 gün boyunca intragastrik olarak uygulanmıştır. Mekanik stimülasyona yanıt olarak pençe geri çekme mekanik eşiği, operasyondan önce 1. günde ve operasyondan sonra 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14. günlerde von Frey filamentleri ile ölçülmüştür. Bahsedilen bu ekstre (100, 200, 400 mg/kg) uygulamasının, pençe geri çekme mekanik eşiği doza bağlı bir şekilde arttığından SNI ile indüklenen mekanik aşırı duyarlılığı önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Ayrıca; bu ekstre sadece NO, NO

sentaz, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyesini düşürmekle kalmayıp, aynı zamanda SNI sıçanlarının spinal dorsal horndaki IL-10 seviyesini de up-regüle ettiği de belirtilmiştir (Chen vd., 2015). Yapılan başka bir çalışmada da, ejder kanı reçinesinden izole edilen üç flavonoidin (loureirin B, cochinchinemin A ve cochinchinemin B) sıçan dorsal horn gangliyonu (DHG) nöronlarında aside duyarlı iyon kanalı akımları üzerinde çeşitli inhibitör etkiler uyguladığını göstermiştir. Bu iyon kanalları nosiseptif bilginin iletilmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Wan vd., 2019).

*Terminalia coriacea* yaprakları flavonoid bakımından zengindir. Bu bitkinin metanolik ekstresinin farelerde glutamat kaynaklı pençe yalamada doza bağlı antinoseptif aktivite gösterdiği gözlenmiştir (p <0.001). Aynı çalışmada nalokson (5 mg/kg, i.p) uygulamasının test ekstraktının analjezik aktivitesini bloke ettiği de saptanmıştır. Ayrıca test ekstresinin tek başına ve L-name (ön-uygulaması) ile kombine olarak kullanıldığında asetik asitle indüklenen kıvrılma sayısını azalttığı, NO yolağı inhibisyonunun katılması ile analjezik etkinin güçlendiği belirtilmiştir (Khan vd., 2018). Yine flavonoidlerce zengin bitkilerden *Passiflora cincinnata*'nın antinoseptif aktiviteleri de farelerde değerlendirilmiştir. Onun, kıvrılma sayısını önemli ölçüde azalttığı ve formalin testinin her iki fazında pençe yalama süresini azalttığı bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca, sıcak plaka testinde reaksiyon süresini arttırmış ve ağırlı davranışı azaltmıştır. Antinoseptif mekanizmasının muhtemelen NO yolağı, potasyum kanallarına etkisi ile muskarinik ve opioid reseptör yollarını içeren santral ve periferik yollar olduğu belirtilmiştir. Karragenan ve histamin uygulanmasından sonraki ödem hacmindeki artış da yine bu ekstre tarafından inhibe edilmiştir. İlâveten peritonit testinde *Passiflora cincinnata*'nın ön uygulamasının; NO, toplam protein konsantrasyonu ve nötrofil sayısındaki azalmayla lökosit migrasyonunu inhibe ettiği de kaydedilmiştir (de Lator vd., 2018).

Flavonoid içeriği bakımından zengin olan *Punica granatum L.* (nar) geleneksel tıpta farklı ağrı türleri için kullanılmıştır. Antinoseptif etkisi en büyük olan kısım kabuk iken, en az etki ise yaprak ve çiçek kısımlarında görülmüştür. Narın antinoseptif etki mekanizmalarının L arginin/NO yolunun aktivasyonu, transient reseptör potential (TRP) süper familyasının üyeleri (TRPA1 veya TRPV1) ve opioid sistemi ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Guerrero-Solano vd., 2020).

İzoorientin (3',4',5,7-tetrahidroksi-6-C-glukopiranosil flavon)'in antinoseptif etkisi kronik konstrikasyon siyatik sinir hasarı (KKH) modeli kullanılarak farelerde

incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; izoorientin uygulaması, hiperaljeziyi, allodiniyi ve farelerde KKH'nin neden olduğu siyatik sinir hasarını önemli ölçüde iyileştirdiği bulunmuştur (Zhang vd., 2019).

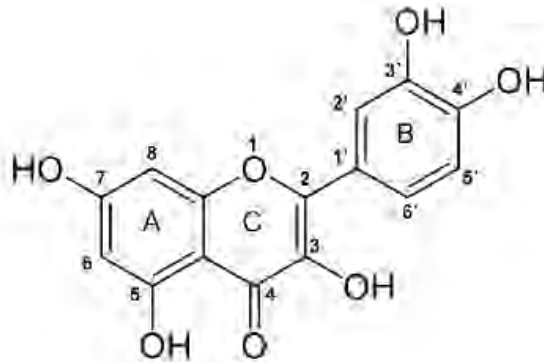
Fan vd. (2018)'nin yaptığı bir çalışmada luteolinin antinosiseptif etkisi farelerde araştırılmıştır. Çalışmalarında luteolin'in sıcak plaka gecikmesinde ve kuyruk geri çekme süresinde önemli ve doza bağlı bir artış ürettiği gösterilmiştir. Ayrıca asetik asit ve glutamatın neden olduğu sırasıyla karın kıvrılma ve pençe yalama sayısını da azalttığı kaydedilmiştir. Ek olarak, formalin testinin her iki aşamasında da nosiseptif yanıtları inhibe ettiği elde edilen veriler arasında yer almıştır (Fan vd., 2018).

Çeşitli ağrı ve inflamatuvar modellerden elde edilen mevcut çalışmaların sonuçlarına göre, flavonoidlerin güçlü anti-nosiseptif ve anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğunu ve böylece ağrı yönetiminde ilaç olarak kullanılabileceğini doğrulamaktadır.

### 2.3.3. Kersetin

Kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi modern yaşam tarzı hastalıklarındaki çarpıcı artış, araştırmacıların doğayı yeni terapötik ajanların kaynağı olarak keşfetme ilgisini yenilemiştir. Flavonoidler, insan diyetinde yaygın olarak bulunan büyük bir polifenol grubudur. Çok çeşitli rahatsızlıklara karşı umut verici terapötik aktiviteler göstermektedir. En yaygın olarak bulunan ve en çok incelenen flavonoidlerden biri flavonol kersetin'dir (Eid ve Haddad, 2017).

Kersetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon) bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bir fenolik bileşiktir. Kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir (Bkz. Şekil 2.3). Parlak bir sitron sarı iğne kristali olduğu ve soğuk suda tamamen çözünmediği, sıcak suda zayıf çözüldüğü, ancak alkol ve lipitlerde oldukça çözüldüğü belirtilmiştir (Li vd., 2016).



Şekil 2.3. Kersetinin kimyasal yapısı (D'Andrea, 2015)

Sık tüketilen elma, soğan, domates, kapari, üzüm, fındık, böğürtlen, ahududu, çay ve brassika sebzelerinde bulunmaktadır (Anjaneyulu ve Chopra, 2003; Pehlivan ve Güteryüz, 2004; Li vd., 2016). İzole kersetin, çoğunlukla serbest kersetin aglikon şeklinde bir diyet takviyesi olarak ve sıklıkla normal diyet alım seviyelerini aşan 1000 mg'a kadar günlük dozlarda pazarlandığı bildirilmiştir. Yüksek ilave kersetin dozlarının ( $\geq 1000$  mg) uzun süreli kullanımı ( $>12$  hafta) ile ilgili güvenlik değerlendirmesi için yayınlanmış yeterli bilimsel verinin olmadığı belirtilmiştir (Andres vd., 2018).

### **2.3.3.1. Kersetinin farmakolojik etkileri**

Kersetin, özellikle de antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinden dolayı iyi bilinen bir flavanoiddir (Ji vd., 2017). Bunu yanında antikanser, antihipertansif, antidiyabetik, antialerjik, antiviral, antiülser ve lipid peroksidasyonu, platelet agregasyonu ve kapiller permeabiliteyi inhibe edici etkiler de gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca kataraktı önleme, nörodejeneratif ve kardiyovasküler sistemi koruyucu etki potansiyeline de sahiptir (Anjaneyulu ve Chopra, 2003; Pehlivan ve Güteryüz, 2004; Li vd., 2016; Eid ve Haddad, 2017; Yang vd., 2019). Günümüzde, kersetinin büyük ölçüde bir besin takviyesi ve diyabet/obezite ve dolaşım bozukluğu, inflamasyon ve duygudurum bozuklukları gibi çeşitli hastalıklar için bir fitokimyasal ajan olarak kullanıldığı belirtilmiştir (D'Andrea, 2015).

Kersetinin tüm vücut glukoz homeostazını kontrol etmek için ince bağırsak, pankreas, iskelet kası, yağ dokusu ve karaciğerdeki birçok moleküler hedefle etkileşime girdiği bildirilmiştir. Kersetinin etki mekanizmaları pleiotropiktir ve mekanizmaların bağırsak glikozu emiliminin, insülin salgılama ve insülin duyarlılaştırıcı aktivitelerin inhibisyonunu ve ayrıca periferik dokularda glikoz kullanımının iyileştirilmesini içerdiği belirtilmiştir (Eid ve Haddad, 2017).

Hipertansiyonun kontrol edilememesi, kardiyovasküler sistemde ciddi hastalıklara neden olmaktadır. İnsanlarda, dört ila on hafta arasında 150~730 mg/gün oral kersetin alımının antihipertansif etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bahsi geçen flavonoidin, özellikle sitozolik klor iyonu konsantrasyonu ( $s[Cl^-]$ ) üzerindeki yeni bir etki mekanizmasını burada bahsetmekte fayda var. Kersetinin, epitelyal  $Na^+$  kanalı (ENaC) yoluyla  $Na^+$  reabsorpsiyonuna katkıda bulunan renal epitel hücrelerinde  $Na^+-K^+-2Cl^-$  kotransporter-1'i aktive ederek;  $s[Cl^-]$ 'nu yükselttiği belirtilmiştir. Renal epitel hücrelerindeki kersetin kaynaklı  $s[Cl^-]$  artışının, ENaC ekspresyonunu azalttığı ve bu

da; renal Na<sup>+</sup> reabsorbsiyonunda azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir. Renal epitel hücrelerinde ENaC aracılı Na<sup>+</sup> reabsorpsiyonunun bu azalması, hacime bağlı yüksek kan basıncını düşürdüğü bildirilmiştir (Marunaka vd., 2017).

Sigara dumanı son derece toksiktir ve hava yolu inflamasyonu, oksidatif stres ve akciğer fonksiyonunda azalma için önemli bir risk faktörüdür. Beş günlük sigara dumanına maruz bırakılmadan önce orogastrik gavaj yoluyla 10 mg/kg/gün kersetin alan erkek C57Bl/6 farelerinde, kontrol grubuna kıyasla lökosit seviyelerinde, oksidatif stres, histolojik patern değişiklikleri ve akciğer fonksiyon değişikliklerinde azalma gözlenmiştir (da Silva Araújo vd., 2020).

Temel kimyasal yapısı sayesinde kersetinin en belirgin özelliği, serbest radikallerin rezonans stabilize fenoksil radikalleri oluşturmasını potansiyel olarak söndürmesini sağlayan güçlü antioksidan aktivitesidir (D'Andrea, 2015). Kersetin, GSH seviyelerini düzenleyerek vücudun antioksidan kapasitesini arttırdığı bilinmektedir. Bunun nedeni, vücutta oksijensiz radikaller üretildiğinde, süperoksit dismutaz (SOD)'ın hızla O<sup>2</sup>'yi yakalaması ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüştürmesidir. Ayrıca, bu enzimin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin toksik olmayan H<sub>2</sub>O'ya dekompozisyonunu katalize ettiği bildirilmiştir. Bu reaksiyon hidrojen donörü olarak GSH'yi gerektirir. Hayvan ve hücre çalışmalarında kersetinin GSH sentezini indüklediği bulunmuştur. Kersetinin yan fenil halkasındaki OH<sup>-</sup> grupları, iki enzimin aktif bölgesinde önemli amino asit kalıntılarına bağlanır. Bu şekilde, oksidatif özelliklerle ilişkili asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz anahtar enzimlerine karşı daha güçlü bir inhibitör etkisi olduğu da vurgulanmıştır (Xu vd., 2019).

İdiyopatik pulmoner fibroz (IPF), etiyojisi hala tam olarak anlaşılamayan kronik, ölümcül bir hastalıktır. Ancak, IPF patolojisinin değişmiş bir redoks dengesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Diyetle verilen kersetinin, farelerde bleomisin-kaynaklı akciğer fibrojenezinin ayırt edici özelliklerini azalttığı gösterilmiştir. Bleomisin tedavisi üzerine, kersetin ile beslenen farelerin, daha az kollajen ve fibronektin ekspresyonu ve azalmış inflamatuvar lezyon eğilimi gösterdiği belirtilmiştir (Boots vd., 2020). Yapılan başka bir çalışmada da, 5-fluorourasil (5-FU)'in böbrek dokusunda oksidatif stresi indüklediği ve buna karşın kersetinin antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. 5-FU'nun, renal IL-33 düzeyini artırarak inflamasyonu uyardığı ve kersetinin bu artışı da inhibe ettiği kaydedilmiştir. Ayrıca, bu bileşiğin özellikle yüksek dozu (100 mg/kg), 5-FU'nun sebep olduğu histopatolojik değişiklikleri önlemiştir. Bu çalışmanın sonucunda,

sıçanlara protektif amaçlı kersetin uygulamasının 5-FU kaynaklı böbrek toksikasyonunu önemli ölçüde önlediği tespit edilmiştir (Şengül, 2019).

Yapılan deneysel bir çalışmada, kersetinin yanık staz zonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Kersetin ile tedavi edilen gruplarda nekroz miktarının ve apoptozun kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az olduğu, otofajinin de kontrol grubunda, kersetin ile tedavi edilen gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha fazla olduğu görülmüştür (Orhan vd., 2016).

Lipopolisakkarit (LPS), erken doğumun inflamatuvar hayvan modelinde yaygın olarak kullanılan maddelerden biridir. Fareler üzerinde yapılan bir incelemede, hamileliğin 15. gününde tek doz fosfat tamponlu salin (taşıyıcı) veya tek doz kersetin (düşük konsantrasyon, 30 mg/kg; orta konsantrasyon, 90 mg/kg; yüksek konsantrasyonlar, 150 mg/kg) oral yoldan verilmiştir. 2 saat sonraki LPS uygulamasıyla kersetin uygulanmayan farelerde %100 preterm doğum gözlenmiş ve fetüslerin hepsi ölmüştür. Kersetinin (90 mg/kg), LPS'nin neden olduğu inflamatuvar erken doğum eyleminin %63,5'ini önemli ölçüde önlediği ve yavruların 22. günde hayatta kalma oranının %83.76 olduğu gösterilmiştir. Kersetinin özellikle mesajcı ribonükleik asit (mRNA) seviyesinde miyometriyumda up-regüle olan IL-6'yı, AP-1/c-Jun'u, COX-2 ve NF-κB/P65'yi önemli ölçüde inhibe etmiştir. Bu sonuçlara göre kersetinin, LPS ile indüklenen deneysel farelerin erken doğum eylemi üzerinde inhibe edici etki yaptığını ve NF-κB/AP-1 yolunu içeren bir mekanizma yoluyla yavruların hayatta kalmasını arttırdığı sonucuna varılmıştır (Lin vd., 2020).

Kersetinin (10-100 mg/kg), doza bağlı bir şekilde TiO<sub>2</sub> ile indüklenen diz eklemi mekanik hiperaljezi, ödem ve lökosit alımını inhibe ettiği gösterilmiştir. Kersetinin koruyucu analjezik ve anti-inflamatuvar mekanizmaları arasında TiO<sub>2</sub> ile indüklenen nötrofil ve makrofaj alımı, proteoglikan bozulmasını, oksidatif stresi, sitokin üretimini (TNF-α, IL-1, IL-6 ve IL-10), COX-2 mRNA ekspresyonu Nrf2/OH<sup>-1</sup> sinyal yolunun aktivasyonu ve kemik rezorpsiyonunun inhibisyonu olduğu belirtilmiştir (Borghi vd., 2018).

### ***2.3.3.2. Kersetinin ağrı tedavisindeki değeri***

Nöropatik ağrının en belirgin semptomları hiperaljezi ve allodinidir. Dolayısıyla çalışmalarda etkili olduğu düşünülen maddelerin özellikle bu semptomlar üzerine olası etkileri değerlendirilmektedir. Artan kanıtlara dayanarak, toll benzeri reseptör (TLR) ve

onlarla ilişkili bileşenlerin, ağrının hipersensitivitesine katkı sağladığı ve proinflamatuvar immun sinyalizasyon olaylarının tetiklenmesinde kritik öneme sahip olduğunu söyleyebiliriz. TLR sinyalizasyonu blokajının patolojik ağrıyı azalttığı belirtilmiştir. Konuyla ilişkili yapılan bir çalışmada, oral alınan kersetinin spinal sinir ligasyonu (SNL)'nin indüklediği termal ve soğuk hiperaljezi üzerine etkisi sıçanlarda incelenmiştir. Bahsedilen çalışmada SNL'nin indüklediği termal hiperaljeziyi değerlendirmek için plantar ve sıcak plaka testi kullanılmıştır. Kersetin (100 mg/kg) uygulanmasından 2 saat sonra latens cevabında önemli bir artma gözlenmiştir. Ayrıca kersetinin bu analjezik etkisinin doza-bağımlı olduğu farkedilmiş, en iyi doz da 100 mg/kg olarak bulunmuştur. SNL'nin indüklediği bazı inflamatuvar mediyatörlerin mRNA ve protein miktarındaki artma, kersetin uygulamasıyla down-regüle edilebilmiştir. Bu çalışmada kersetinin anti-inflamatuvar etkisi gösterilmiş olup TLR sinyalizasyon yolağındaki inhibisyonu ile nöropatik ağrıyı azalttığı belirtilmiştir. Kersetinin kültüre edilmiş astrositlerde IKK, JNK ve TAK1 fosforilasyonunu azalttığı da görülmüştür. Hem glia hücrelerinde hem de nöronlardaki proinflamatuvar cevapların başlangıcında TLR sinyalizasyonunun önemli bir rolü olduğu vurgulanmıştır (Ji vd., 2017). Bir derlemede kersetinin analjezik etkisinin anti-inflamatuvar etkisine bağlı olduğu belirtilmiştir (Carullo vd., 2017).

Romatoid artritli 50 bayanda yapılan randomize, kontrollü, çift-kör bir klinik çalışmada, kersetinin (500 mg/gün-8 hafta boyunca) inflamatuvar ve klinik semptomlar üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Kersetin takviyesinin sabah erken sertliği, sabah ağrısı ve aktivite sonrası ağrıyı önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, plazma yüksek hassasiyetli-TNF- $\alpha$  düzeyi de kersetin grubunda plaseboya göre anlamlı olarak azaldığı kaydedilmiştir (Javadi vd., 2017).

Kersetin uygulamasının, paklitaksel uygulanmış sıçanlarda yüksek olan plazma histamin seviyelerini önemli ölçüde bastırdığı belirtilmiştir. Yine, kersetin uygulamasının, paklitaksel uygulanmış sıçanlarda ve farelerde ısı hiperaljezi ve mekanik allodini eşiklerini doza-bağımlı olarak arttırdığı da araştırmacıların elde ettikleri veriler arasındadır. Ayrıca, kersetinin paklitaksel uygulanan sıçanların ve farelerin spinal kordlarında ve DHG'lerinde artan protein kinaz C (PKC) PKC $\epsilon$  ve TRPV1 ekspresyon seviyelerini doza bağlı olarak bastırdığı bulunmuştur. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre, kersetin uygulamasının, paklitaksel ile muamele edilen

sıçanların spinal kord ve DHG'sindeki sitoplazmadan membrana PKCε translokasyonunu inhibe edebileceği belirtilmiştir (Gao vd., 2016).

Diyabetik nöropatik ağrı, diabetes mellitustaki önemli bir mikrovasküler komplikasyondur. Tedavi edilmesi en zor ağrı tiplerinden biri olarak tanınmaktadır. Streptozotosin (200 mg/kg) i.p. tek doz uygulamasından 4 hafta sonra deneklere termal hiperaljezinin değerlendirilmesi için kuyruk daldırma testi (ılık suda) uygulanmıştır. Kersetinin (100 mg/kg) hem diyabetik hem de diyabetik olmayan farelerde kuyruk çekme latensini belirgin derecede artırdığı bulunmuştur. Diğer taraftan kersetinin indüklediği bu nosiseptif eşik değerindeki artma, opioid reseptör antagonisti olan nalokson (2 mg/kg i.p.) tarafından geri çevrildiği gösterilmiştir. Buna dayanarak kersetinin antinoseptif etkisini opioderjik mekanizma modülasyonu ile olabileceği belirtilmiştir (Anjaneyulu ve Chopra, 2003).

Yakın bir zamanda yapılan bir çalışmanın verilerine göre, kersetin ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda hem mekanik çekilme eşiği hem de termal çekilme gecikmesinin, tedavi edilmemiş diyabetik sıçanlara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Diyabetik sıçanların DHG'deki P2X<sub>4</sub> mRNA ve proteinin ekspresyon seviyeleri, kontrol sıçanlarına kıyasla artmışken, kersetin tedavisi, diyabetik sıçanlarda bu tür arttırılmış P2X<sub>4</sub> ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe etmiştir. Uydu gliyal hücreleri DHG'deki nöronal somayı sarmaktadır. Kersetin tedavisi P2X<sub>4</sub> ve glial fibriller asidik proteinin (uydu gliyal hücrelerinin bir belirteci) yüksek ko-ekspresyonunu ve diyabetik sıçanların DHG'sinde fosforile p38 mitojenle aktifleştirilmiş protein kinazın up-regülasyonunu azaltmıştır. Buna göre; kersetinin diyabetik sıçanlarda mekanik ve termal hiperaljeziyi hafifletmek için P2X<sub>4</sub> reseptör aracılı p38-MAPK aktivasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir (Yang vd., 2019).

SNI sıçan modelinin kullanıldığı bir nöropatik ağrı çalışmasında, spinal kord ve DHG'deki fibriller asidik protein ve arka pençedeki ağrı davranışları ölçülmüştür. Cerrahiden önce başlanan kersetin oral uygulamasının, SNI sonrası 7. ve 10. günlerde kontrol grubuna kıyasla mekanik allodiniyi hafiflettiği gösterilmiştir. Kersetinin, kontrol grubuna kıyasla 7. günde ipsilateral L5 DHG'nin uydu gliyal hücrelerinde fibriller asidik proteini inhibe ettiği görülmüştür. Bu flavonoidin, kısmen uydu gliyal hücrelerin inhibisyonunu içeren bir mekanizma yoluyla nöropatik ağrının gelişimini bastırdığı belirtilmiştir (Muto vd., 2018). Kersetinin kronik daralma yaralanmasının deneysel bir sıçan modeli üzerinde etkilerinin gösterildiği bir çalışmada, mekanik ve termal

hipersensitiviteyi hafifletmek açısından gabapentin ve morfinden önemli ölçüde üstün olduğu bulunmuştur. Ek olarak, kersetinin 4 gün boyunca yaralanma öncesi uygulanması, mekanik hipersensitivite üzerinde uzun süreli etkililik göstermiştir (Çivi vd., 2016).

Yapılan bir çalışmada, termal ve mekanik allodini gibi duyuşal değişikliklerin gelişimi, soğuk suda (10°C) kuyruk daldırma testi ve von-Frey testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Her oksaliplatin enjeksiyonundan 30 dakika önce enjekte edilen kersetinin (25-100 mg/kg, i.p.), termal ve mekanik nosiseptif cevabı önlediği, spinal kordun dorsal horndaki indüklenbilir NO sentaz ve nitrotirozin immüno lekelenmesini azalttığı gösterilmiştir (Azevedo vd., 2013).

Termal nosisepsiyonun sıcak plaka ve tail-flick testi ile değerlendirildiği bir çalışmada kersetinin doza bağlı şekilde analjezik etki gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada, düşük dozlarda kersetin ve klonidinin birlikte uygulanması sinerjistik bir analjezik etki yaratmıştır. Yohimbinin ön uygulamasının, kersetin ve klonidin/kersetin kombinasyonunun neden olduğu etkileri önemli ölçüde tersine çevirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları kersetinin antinosiseptif bir etkiye neden olduğunu ve bu etkinin öncelikle adrenerjik yolların modülasyonunu içerdiğini ortaya koymaktadır (Kaur vd., 2005).

Kersetinin (10-60 mg/kg, i.p. veya 100-500 mg/kg, p.o.) asetik asitle uyarılan ağrı testinde nosiseptif davranışı doza bağımlı bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, kersetinin (10-60 mg/kg, ip), nörojenik ve inflamatuvar fazları için sırasıyla, 374.1 (68.0-402.0) mmol/kg ve 103.0 (45.0-201.0) mmol/kg enfeksiyon dozu (ID<sub>50</sub>) değerleriyle formalin kaynaklı ağrının her iki fazını da inhibe ettiği bildirilmiştir. Üstelik, kersetinin (10-60 mg/kg) glutamat ve kapsaisin tarafından indüklenen nosisepsiyonu da sırasıyla %68,2 ve %75,5 oranında inhibe ettiği belirtilmiştir. Diğer taraftan bu analjezik etkisinin, p-klorofenilalanin metil ester, ketanserin, metiserjid, bir GABA<sub>A</sub> antagonisti (bikukulin) veya bir GABA<sub>B</sub> antagonisti (baklofen) ile önemli ölçüde tersine çevrildiği bildirilmiştir. Bu sonuçlarla birlikte, kersetinin; L-arginin-NO, 5-HT ve GABA<sub>A</sub>erjik sistemlerle etkileşimi içeren mekanizmalar yoluyla çeşitli kimyasal ağrı modellerinde doza bağlı anti-nosiseptif etki gösterdiği belirtilmiştir (Willain Filho vd., 2008).

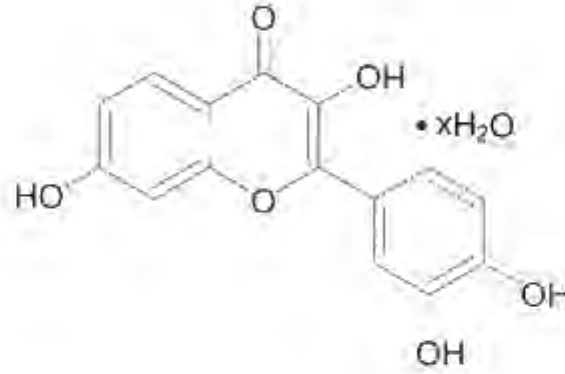
Kersetinin antinosiseptif etki mekanizmasıyla ilgili olarak yapılan bir araştırmada; tail-flick latensini doza bağlı artırmasının, nalokson (1 mg/kg) ile geri çevrilebildiği, D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> reseptör antagonisti haloperidol, seçici bir D<sub>2</sub> reseptör antagonisti sülpirid (50

mg/kg), bir  $\alpha_2$ -adrenoreseptör antagonisti yohimbin (5 mg/kg) ile de bloke edilebildiği, fakat SCH 23390 (seçici D<sub>1</sub> reseptör antagonisti) ile edilemediği belirtilmiştir. Ayrıca, D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> dopamin reseptör agonisti olan apomorfın ve seçici bir D<sub>2</sub> reseptör agonisti olan kinpirol de antinosiseptif etki göstermiştir. Diğer taraftan, bu etkinin haloperidol (1 mg/kg) ve sülpirid (50 mg/kg) ile geri çevrildiği, yohimbin (5 mg/kg) ile çevrilmediği belirtilmiştir. Üstelik kersetinin (200 mg/kg) antinosiseptif etkisinin, D<sub>2</sub> agonisti kinpirol (0.2 mg/kg) ile güçlendiği de bildirilmiştir. Yapılan bu çalışma sonuçlarına göre; kersetinin antinosiseptif etkisinde dopamin D<sub>2</sub> ve  $\alpha_2$ -adrenoreseptörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir (Naidu vd., 2003).

Kersetinin antinosiseptif aktivitesinin olası mekanizmalarından biri de PKC inhibisyonu olduğundan bahsedilmiştir. P maddesi ve eksitatör amino asitlerin salınımindaki artış hiperaljeziye sebep olmaktadır. Hiperaleji, diaçilgliserol miktarını artırabilir ve PKC'yi aktive etmektedir. Kersetinin sıgır beyni kadar sıçan beyninde de PKC aktivasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Anjaneyulu ve Chopra, 2003).

#### **2.3.4. Fisetin**

Fisetin (3,3',4',7-tetrahidroksiflavon) çilek (160 µg/g miktarı ile en zengin fisetin kaynağı), hurma, elma, kivi, üzüm gibi çeşitli meyvelerde, domates, soğan ve salatalık gibi sebzelerde bulunmaktadır (Pal vd., 2016; Maher, 2017; Kashyap vd., 2018; Althunibat vd., 2019; Gryniewicz ve Demchuk, 2019). Fındık ve şarapta da bulunduğu bilinmektedir. Bu flavonoid, sarı biyoaktif bir pigmenttir (Pal vd., 2016). Yapılan çalışmalar ışığında, fisetinin oral uygulandıktan 40 dk sonra 2 saat süreyle beyindeki kan damarlarında tespit edilebileceği belirtilmiştir. Bu da onun absorpsiyonunun ve distal organlara biyoyararlanımının iyi olduğunu göstermektedir (Pal vd., 2016). Fisetinin kimyasal yapısı aşağıda gösterilmektedir (Bkz. Şekil.2.4). Temel metabolitleri; glukuronide fisetin, geraldol (3,4',7-trihidroksi-3'-metoksiflavon) ve glukuronide geraldoldür. İlginç olarak, birkaç biyolojik analizde geraldolün fisetin kadar aktif olduğu belirtilmektedir. Üstelik fisetinin ne kısa ne de uzun dönem toksisitesinin olduğunu gösteren kanıtların olmadığı da bildirilmiştir (Maher, 2017).



Şekil 2.4 Fisetinin kimyasal yapısı (Zhao vd., 2015a)

Doğal fisetin uluslararası pazarda bulunabilirliği ve yüksek biyolojik aktivitelerine rağmen, bileşiğin gıda takiyesi halinin hala nadir olduğu bildirilmiştir. Piyasada üreticilere göre “belirgin beyin sağlığına faydaları” olan fisetin içeren çeşitli diyet takviyeleri bulunmaktadır. Onların bu ürünleri antikarsinojenik, seno-terapötik, sağlığın geliştirilmesi için diyet antioksidanları, nörotrofik, anti-inflamatuar, bilişsel ve beyin sağlığına ya da Alzheimer ve Parkinson hastalarına yardımcı ajan olarak tavsiye ettiği belirtilmiştir (Grynkievicz ve Demchuk, 2019).

#### 2.3.4.1. Fisetinin farmakolojik etkileri

Bitkisel kaynaklı polifenollerin anti-inflamatuar ve antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir (Hytti vd., 2017). Bu polifenollerden biri olan fisetin insanla ilişkili hayvan modellerinde ve hücre kültürlerinde güçlü anti-inflamatuar, antioksidan, antinosiseptif, anti-invazif, antianjiyogenik, antidiyabetik, antidepresan, nöroprotektif, hipokolesterolemik, kardiyoprotektif etki ve antitümörijenik olduğu gösterilmiştir (Shin vd., 2013; Pal vd., 2016; Yu vd., 2016; Wang vd., 2017; Kashyap vd., 2018; Yao vd., 2020;).

30’a yakın flavonoidler ve ilişkili polifenollerin test edildiği bir çalışmada fisetin oksidatif stres varlığında GSH seviyesini devam ettirebildiği belirtilmiştir. Bu özellik flavonoidlerin yaygın bir özelliği değildir (Maher, 2017). Bir incelemede alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, karaciğer histolojik gözlemi ve hücre canlılığı sonuçları fisetin farelerde ve L-02 hücrelerinde asetaminofen kaynaklı toksisiteyi tersine çevirebileceği gösterilmiştir. Çalışmanın mRNA ve immüno Floresan sonuçları, fisetin karaciğer dokusunda ve L-02 hücrelerinde ROS oluşumunu

bastırıldığını ve ayrıca GSH peroksidaz-1 ve diğer antioksidatif enzim genlerinin ekspresyonunu restore ettiği rapor edilmiştir. Sonuçlara göre, fisetin GSH metabolizmasını ve ilgili antioksidatif sinyallerin ekspresyonunu düzenleyerek asetaminofen kaynaklı hepatotoksisiteyi önlediği belirtilmiştir (Zhao vd., 2019).

Yapılan çalışmalarla fisetinin kronik inflamasyonla ilişkili hayatı tehdit edici hastalıklarla ilişkili *in vitro* sistemleri ve hayvan modellerinde inflamasyonu önleme potansiyeli gösterilmiştir (Pal vd., 2016). Bir incelemede, fisetinin farelerde LPS ile indüklenen depresif benzeri davranış ve inflamasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Fisetinin 7, 20, 40 ve 80 mg/kg (p.o.) dozlarında ön uygulaması ile, zorunlu yüzdürme testi ve kuyruk süspansiyon testinin her ikisinde de hareketsizlik süresindeki LPS'nin neden olduğu artmayı tersine çevirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, nörokimyasal analizlerle, hipokampusta ve prefrontal kortekste proinflamatuvar sitokinin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) LPS kaynaklı aşırı ekspresyonunu tersine çevirdiği de gösterilmiştir. Üstelik yüksek dozda fisetinin, hipokampusta ve prefrontal kortekste NF- $\kappa$ B'nin modülasyonu yoluyla iNOS mRNA ekspresyonunu ve nitrit seviyelerini etkili bir şekilde antagonize ettiği belirtilmiştir. Bu çalışmada, fisetinin, LPS ile indüklenen depresif benzeri davranışlar için etkili bir terapötik ajan olmasının anti-inflamatuvar özelliğinden kaynaklandığı savunulmuştur (Yu vd., 2016). Yine fisetinin antidepresan etkisinin ve bu etkinin mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada, fareler fisetin ile veya fisetin tedavisi olmadan 2 hafta boyunca mekansal kısıtlamaya maruz bırakılmıştır. Bu kısıtlamadan sonra zorunlu yüzdürme ve kuyruk süspansiyon testinde hareketsizlik süresinin, tedavi edilmeyen grupta arttığı, ancak fisetin grubunda bu artışın olmadığı gözlenmiştir. Tirozin kinaz B (TrkB)'nin, depresyon mekanizmalarında kritik bir sinyal yolu olduğu bilinmektedir. Fisetinin, toplam TrkB'yi değiştirmeden fosforile TrkB seviyesini arttırdığı bulunmuş; bu artış, spesifik bir TrkB inhibitörü olan K252a ile zayıflatılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre fisetinin gösterdiği bu antidepresan etkiye TrkB sinyal yolunun aktivasyonu ile aracılık edebileceği gösterilmiştir (Wang vd., 2017). Başka bir çalışmada da fisetinin (10 ve 20 mg/kg, p.o.) her iki davranış testinde hareketsizlik süresini inhibe ettiği gösterilmiştir. Daha yüksek fisetin dozunun, rezepin tarafından uyarılan pitozu değil, hipotermiyi etkili bir şekilde antagonize ettiği bulunmuştur. p-klorofenilalanin (5-HT depleasyonu) ön uygulaması ile, fisetinin her iki testteki anti-immobilite etkisini ortadan kaldırmıştır. Ayrıca nörokimyasal analizler ile fisetinin frontal kortekste ve hipokampusta 5-HT ve noradrenalin düzeylerinde bir artış meydana

getirdiği gösterilmiştir. Fare beyindeki monoaminoksidaz (MAO) aktivitesi, fisetin ile tedaviden sonra %14,7 oranında inhibe edilirken, MAO-B aktivitesi etkilenmemiştir. Bu bulguların, fisetinin antidepresan benzeri etkisinde, merkezi 5-HT ve noradrenalin seviyelerinin düzenlenmesinin de rolü olabileceğini gösterdiği belirtilmiştir (Zhen vd., 2012).

İnme, travma, Alzheimer ve Parkinson gibi çeşitli nörolojik patolojilerde oksidatif stresin indüklediği sinir hücresi ölümü yer almaktadır (Pal vd., 2016). Fisetinin Parkinson hastalığı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) uygulanan farelerde striatal dopamin kaybını önlediği bulunmuştur. 10 mg/kg fisetin striatal dopamin miktarında %70 oranında bir artış yaparken, 25 mg/kg dozda 2 kattan daha fazla bir artış görölmüştür. Ayrıca, MPTP ile tirozin hidroksilaz immünoaktivitesinde önemli bir kayıp söz konusu iken, fisetin uygulamasıyla bu durumun önemli ölçüde önleniği gösterilmiştir (Maher, 2017). Ayrıca fisetinin hayvanlarda davranış, öğrenme kapasitelerini ve hafızayı geliştirerek davranışsal nörolojik etkiler gösterdiği belirtilmiştir. Bu özellikleri fisetini Alzheimer, Huntington ve diğer nörolojik hastalıkların yönetilmesinde gelecek tedaviler için aday durumda yapmaktadır (Pal vd., 2016).

Fisetinin diabetes mellitus ile ilişkili yaygın komplikasyonların azalması veya hafifletilmesinde rol oynayabileceği belirtilmektedir (Pal vd., 2016). Diyabetik kardiyomiyopati diyabette miyokardiumdaki patolojik değişiklikler olarak tanımlanmaktadır ve bu duruma hiperglisemi-aracılı oksidatif stres, inflamasyon, hücre ölümü yolaklarının aktivasyonu gibi birçok olayı kapsayan patofizyolojik mekanizmalar sebep olmaktadır. Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçan modelinin kullanıldığı bir çalışmada 2,5 mg/kg fisetin hem diyabetik hem de kontrol grubuna 6 hafta süreyle verilmiştir. Bu uygulama sonrası hiperglisemi, hiperlipidemi (artmış trigliserid, total kolesterol, LDL-C, çok düşük dansiteli lipoprotein-C seviyeleri), artmış olan kalp fonksiyon markırlarının miktarı serum troponin I, kreatin kinaz-MB ve laktat dehidrojenaz azalmıştır. Yine bu çalışmada histolojik bulgularla fisetinin diyabetik miyokardiyal hasar üzerine iyileştirici etkiler göstererek kardiyoprotektif olduğu gösterilmiştir. Hiperglisemi ve hiperlipidemi ROS üretiminin artmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu sebeple sıçan kalbinde antioksidan ve oksidatif stres belirteçleri üzerine etkisi incelenmiştir. Diyabetle sıçan kalbinde azalmış olan GSH içeriği, SOD ve katalaz aktivitesinde fisetin uygulamasıyla iyileşme gözlenmiştir. Ayrıca hem

malondialdehit hem de protein karbonil seviyelerinde de önemli iyileşmeler görülmüştür. Sonuç olarak; fisetinin diyabetik sıçanlarda oksidatif stresi baskıladığı, inflamasyonu ve apoptozisi önlediği ve antioksidan savunmayı artırdığı belirtilmiştir (Althunibat vd., 2019).

Dong vd. (2018)'nin yaptığı bir çalışmada; fisetinin kardiyak hipertrofisi üzerine etkileri incelenmiştir. Onun ön-yük basıncın indüklediği kardiyak hipertrofisini inhibe ettiğini ve *in vitro* olarak fenilefrinin indüklediği kardiyomiyosit hipertrofisini baskıladığını göstermişlerdir. ROS miktarının hem hipertrofik kalpte hem de kardiyomiyositlerde fisetin tedavisiyle belirgin şekilde azaldığı da gösterilmiştir. Ayrıca fisetinin katalaz, SOD-1 ve hemoksijenaz-1'i içeren antioksidatif gen ekspresyonunu önemli ölçüde up-regüle ettiği de görülmüştür. Bu bilgilere dayanarak fisetinin antihipertrofik etkilerinin çoğunlukla oksidatif stresi bloke etmesiyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Dong vd., 2018).

Fisetinin kolesterol homeostazını modüle ederek obezitenin önlenmesi ve tedavisinde rol oynayabileceği de belirtilmiştir (Pal vd., 2016). Yüksek yağ grubundaki hepatik kolesterol içeriğinin yanı sıra yüksek toplam kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinin fisetin tarafından önemli ölçüde azaltıldığı bulunmuştur. Yüksek yağlı diyetin LDLR'nin hepatik mRNA düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve hepatoselüler kasinom hücre dizisi olan HepG2 hücrelerinde fisetinin, sterol düzenleyici element bağlayıcı protein-2 ve LDL reseptörlerinin nükleer bir formunun seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. Sonuç olarak, fisetin takviyesinin, kolesterol ve safra asidi metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonunu modüle ederek hipokolesterolemik etkiler gösterdiği kaydedilmiştir (Shin vd., 2013).

Yapılan başka bir çalışmada, test edilen 10 flavonoid arasından fisetin en güçlü senolitik olarak bulunmuştur. Progeroid ve yaşlı farelerin fisetin ile akut veya aralıklı tedavisinin, birden fazla dokuda yaşlanma belirteçlerini azalttığı bildirilmiştir. Fisetin, murin ve insan yağ dokusundaki bir hücre alt kümesinde yaşlanmayı azaltmıştır. Yaşamın sonlarında vahşi tip farelere fisetin uygulanmasının, doku homeostazisini restore ettiği, yaşla ilişkili patolojiyi azalttığı ve uzatılmış medyan, maksimum ömür gösterdiği rapor edilmiştir (Yousefzadeh vd., 2018). Ayrıca yapılan araştırmalarda fisetinin *in vitro* ve *in vivo* çeşitli kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Pal vd., 2016).

Yaşla ilgili maküler dejenerasyon, oksidatif stres hastalığıdır ve Batı dünyasında yaşlılar arasında görme kaybının en yaygın sebebi olduğu bilinmektedir. Bu durumda, ROS retinal pigment epitelinde (RPE) bol miktarda bulunmaktadır. Konuyla ilgili olarak Hytti vd. (2017), insan RPE hücrelerindeki non-oksidatif DNA hasarının indüklediği bir hücre modelinde fisetinin inflamasyon ve hücreyel yaşayabilirliği üzerine etkilerini incelemişlerdir. Etoposidle muamele edilen RPE hücrelerinde fisetinle ön-uygulama sonrasında proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve IL-8 seviyelerinde önemli bir azalma görülmüştür. Ancak bu uygulama etoposidin indüklediği yetişkin RPE-19 hücre ölümünü şiddetlendirmiştir. Fisetinin indüklediği hücre ölümüne p53 asetilasyonunda artış ve sirtuin-1 seviyesinde azalmanın eşlik ettiği belirtilmiştir (Hytti vd., 2017).

#### **2.3.4.2. Fisetinin ağrı tedavisindeki değeri**

Periferik ağrılı nöropati, diyabette en sık görülen komplikasyonlardan biridir. Fisetinin daha önceki çalışmalarda antidepresan benzeri bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Antidepresan ilaçlar nöropatik ağrıyı tedavi etmek için klinik olarak kullanıldığından, bir çalışma fisetinin diyabetik nöropatik ağrı üzerinde faydalı bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Streptozotosinle indüklenen diyabetli farelerin fisetin ile kronik tedavisi, sadece termal hiperaljezi (Hargreaves test) ve mekanik allodini (von Frey test) semptomlarını iyileştirmekle kalmamış, aynı zamanda düşük dozlarda verildiğinde nöropatik ağrının gelişimini de durdurmuştur. Ayrıca, fisetinin analjezik etkileri, ROS donörü tert-butil hidroperoksit ile tekrarlanan eş zamanlı uygulamalarıyla kaldırılırken, ROS yakalayıcısı fenil-N-tert-butilnitron ile güçlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre, bikukulin tarafından spinal GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin akut blokajının, fisetin analjezisine tamamen karşı koyduğu gösterilmiştir. Fisetin analjezisinin antioksidan etkisiyle ve spinal GABA<sub>A</sub> reseptörleriyle ilişkili olabileceğinden bahsedilmiştir (Zhao vd., 2015b).

Fisetinin olası antinosiseptif etkisinin ve mekanizmasının incelendiği bir araştırmada, KKH ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde termal hiperaljezi ve mekanik allodini değerlendirilmiştir. Kronik fisetin tedavisinin (5, 15 veya 45 mg/kg, p.o.), spinal monoaminlerin yükselmesiyle birlikte termal hiperaljeziyi iyileştirdiği (ancak mekanik allodiniyi değil) ve MAO-A aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir. Fisetinin anti-hiperaljezik etkisi, spinal 5-HT'nin kimyasal olarak tükenmesiyle ortadan kaldırılmıştır. Diğer taraftan, 5-HT'nin bir öncüsü olan 5-hidroksitriptofan ile birlikte

uygulanmasıyla etkinin potansiyelize edildiği belirtilmiştir. Ayrıca, 5-HT7 reseptör antagonisti SB-258719 (i.p. veya i.t.) ile birlikte uygulanmasıyla, fisetinin antihiperalejisinin tamamen ortadan kaldırıldığı görülmüştür. Dolayısıyla fisetinin antinosiseptif etki mekanizmasında spinal serotonerjik sistemin (5-HT7 ile birleştiğinde) önemli rolünün bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada fisetinin, nöropatik ağrı ile uyarılan depresyon ve anksiyetenin eş-morbid davranışsal semptomlarını (zorunlu yüzdürme testi, yenilik baskılanmış besleme testi ve aydınlık-karanlık testi ile değerlendirilmiştir) hafiflettiği belirtilmiştir (Zhao vd., 2015a).

Fibromiyalji; yaygın kas-iskelet ağrısıyla karakterize kronik kompleks kas-iskelet hastalığıdır. Bu hastalığa yorgunluk, uyku bozuklukları, hafıza defektleri ve akıl değişiklikleri eşlik etmektedir. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada rezerpinin indüklediği allodini, hiperaleji ve depresyona karşı fisetin uygulaması değerlendirilmiştir. Fisetinin (10 ve 25 mg/kg) pençe ve kuyruk çekme latensinde bir artış yaparak, pençe çekme eşiğinde ve azalmış immobilitate zamanını artırarak önemli ölçüde iyileşme gösterdiği kaydedilmiştir. Sonuç olarak; fisetinin, rezerpinin indüklediği fibromiyaljide allodini, hiperalejiyi ve depresyonu, düşük biyolojik amin (5-HT, noradrenalin ve dopamin) miktarını ve artmış oksidonitrozatif stresi ve ROS'u modüle ederek antidepresan ve antinosiseptif etkisi ortaya çıkardığı belirtilmiştir (Yao vd., 2020).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar

Sarf madde	Firma adı
Kersetin	Sigma, USA
Fisetin	Biosynth Carbosynth, USA
Ketamin	Richter Pharma AG, Avusturya
Ksilazin	Bioveta, Ankara, Türkiye
Pregabalin	Cayman Chemical
Gabapentin	TCI, Japan
DMSO	VWR Prolabo, ABD
Etil Alkol (Absolüt)	Merck, Almanya

#### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Makine-Teçhizat	Firma-Model
Elektronik von Frey Cihazı	Ugo Basile 38450=004, İtalya
Ultrasonik su banyosu	Heto, Allerod, Danimarka
Hassas terazi	Ohaus E12140, İsviçre
Aktivite kafesi	Ugo Basile 47420, İtalya
Vorteks	Velp Scienticia, Çin

#### 3.3. Deney Hayvanları

Deneylerimizde Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nden alınan 200-250 g ağırlığında Spraque Dawley dişi sıçanlar kullanılmıştır. 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış olan,  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırılmıştır. Bu deney hayvanları, deneyler başlamadan birkaç gün önce deneylerin yapılacağı odaya alınarak deney ortamına alıştırmıştır. Hayvanların beslenmeleri, standart yem peletleri ve çeşme suyu verilerek sağlanmıştır. Deney hayvanları ile yapılacak çalışmalar için Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (Karar No: 2020-07, 12.02.2020) tarafından Etik Kurul Onayı alınmıştır.

### 3.4. DeneY Grublarının Oluşturulması ve İlaç uygulamaları

KKH modeline bağlı nöropati gelişimini gösterebilmek için cerrahi işlem yapılmadan önce tüm sıçanların mekanik (Elektronik von Frey filament) ağrı eşikleri ölçülmüştür. Daha sonra cerrahi işlem yapılarak sıçanlarda KKH'ye bağlı nöropati modeli geliştirilmiştir. Sham grubu olarak seçilen bir grup sıçana ise, cerrahi müdahalenin etkisini göstermek amacıyla sinir hasarı verilmeden sadece sham operasyonu yapılmıştır. Sinir hasarı oluşturulduktan ve sham operasyonu yapıldıktan 7 gün sonra, aynı test prosedürleri uygulanarak sıçanların mekanik eşikleri tekrar ölçülmüştür. Bu şekilde sıçanlarda nöropati gelişiminin tespit edildiği sıçanlar deneylere alınmıştır. Daha sonra 8. günde ilaç enjeksiyonları yapılıp tekrarlanan test prosedürleri ile ilaç etkinliği değerlendirilmiştir. Deneyde kullandığımız kersetin, fisetin, pregabalin ve gabapentin, %10'luk DMSO (dimetilsülfoksit) çözeltilisi içerisinde çözünmüştür (Sumbul vd, 2016) ve kontrol grubuna da bu çözücü uygulanmıştır. Tüm enjeksiyonlar i.p. yolla yapılmıştır.

Fisetin ve kersetinin anti-allodinik etkinliğini değerlendirmek için sıçanlar 20 gruba ayrılmıştır. (n=8). Bu gruplara sırasıyla;

1. Çözücü uygulaması (Sham kontrol grubu),
2. Çözücü uygulaması (Nöropatili kontrol grubu),
3. 5 mg/kg Fisetin
4. 10 mg/kg Fisetin
5. 20 mg/kg Fisetin
6. 5 mg/kg Kersetin
7. 10 mg/kg Kersetin
8. 20 mg/kg Kersetin
9. Pregabalin 30 mg/kg
10. Pregabalin 15 mg/kg
11. Gabapentin 100 mg/kg
12. Gabapentin 50 mg/kg
13. Fisetin (10 mg/kg) + Gabapentin (50 mg/kg)

14. Fisetin (10 mg/kg) + Pregabalin (15 mg/kg)
15. Fisetin (5 mg/kg) + Gabapentin (50 mg/kg)
16. Fisetin (5 mg/kg) + Pregabalin (15 mg/kg)
17. Kersetin (10 mg/kg) + Gabapentin (50 mg/kg)
18. Kersetin (10 mg/kg) + Pregabalin (15 mg/kg)
19. Kersetin (5 mg/kg) + Gabapentin (50 mg/kg)
20. Kersetin (5 mg/kg) + Pregabalin (15 mg/kg)

Nöropati modeli geliştirilmiş 17 ayrı grup (2-4., 6., 7., 9-20. grup) ise aktivite kafesi ile lokomotor aktivitenin değerlendirilmiştir.

### **3.5. Deneysel Yöntemler**

#### **3.5.1. Kronik konsrüksiyon sinir hasarı (KKH)'na bağlı nöropati modelinin oluşturulması**

Bennett vd. tarafından 1988 yılında geliştirilen ve ilk bulunan parsiyel siyatik sinir zedelenmesi modeli olarak bilinen KKH, sıklıkla kullanılan bir nöropatik ağrı hayvan modelidir. Sıçanlar i.p olarak uygulanan 90 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi altına alındıktan sonra sağ arka bacaklarının üst kısmı traşlanıp cerrahi işleme hazır hale getirilmiştir (Pathak vd., 2013). Anestezi uygulamasını takiben spontan hareketlerini kaybeden sıçanlar göğüs kafeslerinin üzerine yerleştirilmiş ve arka bacakları femurları ile 90 derecelik açı oluşturulacak şekilde sabitlendikten sonra kalçanın distalinde, femurun 3-4 mm altına uzunlamasına ekseni boyunca 1cm'lik kesik atılmıştır. Makas yardımıyla kas tabakası ayrıldıktan sonra açığa çıkarılan siyatik sinir çevre dokulardan temizlenmiştir. Daha sonra bu sinire, 4/0 ipek katkı (Doğsan, Trabzon, Türkiye) kullanılarak unilaterale olarak yaklaşık 1mm aralıklarla dört ayrı gevşek düğüm atılmıştır (Austin vd., 2012). Her bir düğüm üzerine ikinci bir düğüm daha atılarak düğümlerin uygun pozisyonda kalması sağlanmıştır. Düğümlerde serbest kalan uçlar 1 mm olacak şekilde kesildikten sonra (Shi vd., 2011), kesi atılan alan 4/0 ipek katkı (Doğsan, Trabzon, Türkiye) ile kapatılmış ve dikiş tamamlandıktan sonra iyot çözeltilisiyle sterilize edilmiştir. Cerrahi işlem sonrasında sıçanlar ayrı kafeslerde muhafaza edilmiş ve anesteziden çıkana kadar takip edilmiştir. Test prosedürlerine başlamadan önce, sıçanlar nöropati gelişimi için 1 hafta boyunca bekletilmiştir.

### 3.6. Ağrı Eşiklerinin Değerlendirilmesi

#### 3.6.1. Elektronik von Frey cihazı-mekanik allodini

Sıçanların mekanik uyarana karşı ağrı eşikleri, elektronik von Frey cihazı (Ugo Basile, No: 38450, Verase, İtalya) kullanılarak ölçülmüştür. Elektronik von Frey cihazı kapasitesinin (1=1000gf) izin verdiği kadar kullanıcı kontrollü olarak sürekli kuvvet uygulanması sağlanmakta ve hayvan tepkisini otomatik olarak kaydetmektedir. Mekanik allodini, elektronik von Frey cihazı kullanılarak geliştirilen mekanik uyarana yanıt olarak sıçanın pençesini geri çekme eşiğinin tespit edilmesiyle değerlendirilmiştir. Sıçanlar mekanik allodini değerlendirmesinden önce delikli metal platformun üzerine konulan özel plastik kafeslerine yerleştirilip 15-30 dk boyunca ortama alıştırmıştır (Bordet vd., 2008). Hayvanın sinir hasarı geliştirilen taraftaki arka ayak pençesinin orta plantar yüzeyine dik olarak uygulanan paslanmaz çelik bir filament aracılığıyla, operatör kontrolündeki hızla artan kuvvet ile mekanik uyarı oluşturulmuştur (Huang vd., 2004; Thangamani vd, 2013). Hayvanın pençesini çekmesine yol açan güç (gram=gf) cihaz tarafından kayda alınmıştır. Her bir sıçan için 3'er dakikalık aralıklarla alınan 3-4 ardışık ölçümün ortalaması, hayvanın geri çekme eşiği olarak değerlendirilmiştir. Pençede doku hasarı gelişmesinin önüne geçmek için kuvvet kesme noktası (cut-off) 50 gf olarak belirlenmiştir (Huang vd., 2004; Bordet vd., 2008). Maksimum olası etkinin yüzdesi (%MPE), elektronik von Frey testinden elde edilen eşiklerden hareketle aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Nazemi vd., 2021):

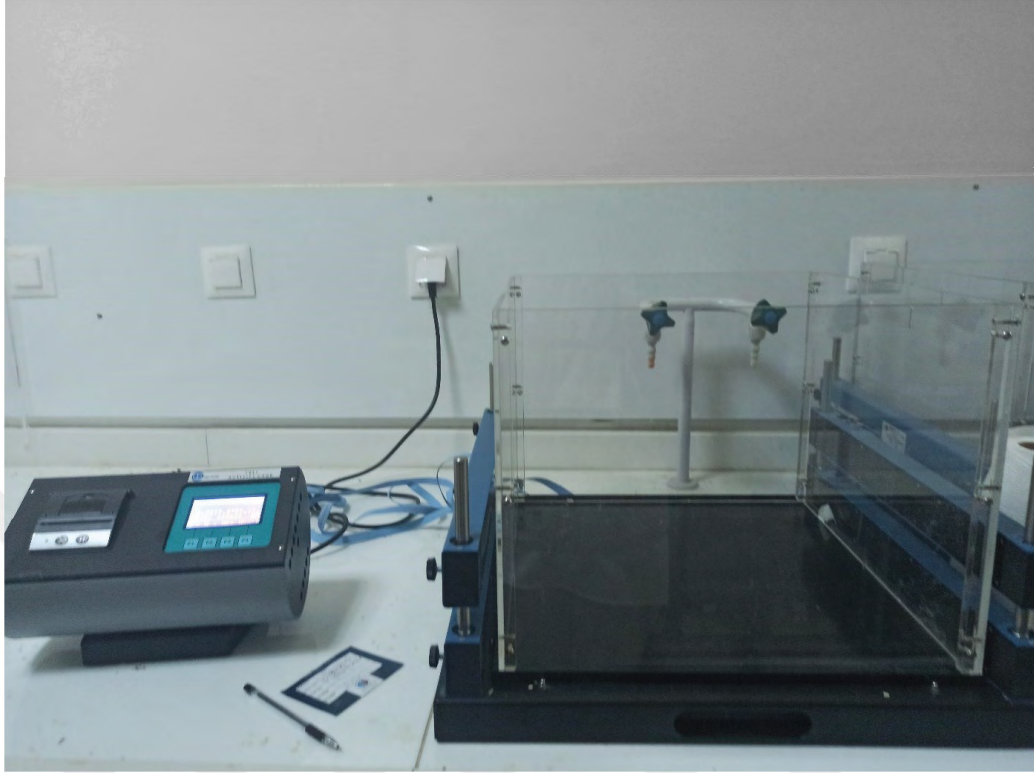
$$\%MPE = [(ilaç \text{ sonrası ölçülen eşik} - ila\text{ç öncesi ölçülen eşik}) / (\text{cut off değeri} - ila\text{ç öncesi ölçülen eşik})] \times 100$$

%MPE değerindeki yükselme, anti-allodinik aktivite olarak değerlendirilmiştir.

#### 3.6.2. Aktivite kafesi

Hayvanların spontan lokomotor aktivitesini değerlendirmek için pleksiglas yapıda ve kafes biçimindeki aktivite kafesi kullanılmıştır. Hayvanların kafes içinde yaptıkları yatay ve dikey yöndeki hareketler, infrared ışınları kesintiye uğratmakta ve elektronik ünitenin dahili hafızası tarafından sayılan ve kaydedilen ışın kesintileri, kullanıcının hayvan aktivitesini değerlendirmesini ve analiz etmesini sağlamaktadır (Marazoti vd., 2009). Yukarıda belirtilen 2-4., 6., 7., 9-20. gruplardaki nöropatik ağrı modeli oluşturulmuş deney hayvanları, ilgili maddelerin uygulanmasından 45 dk sonra

aktivite kafesine alınmış ve 15 dk boyunca ölçüm yapılmıştır. Tez çalışmamızda kullandığımız aktivite kafesi şekil 3.1’de görülmektedir.



*Şekil 3.1. Aktivite kafesi testi aparatı*

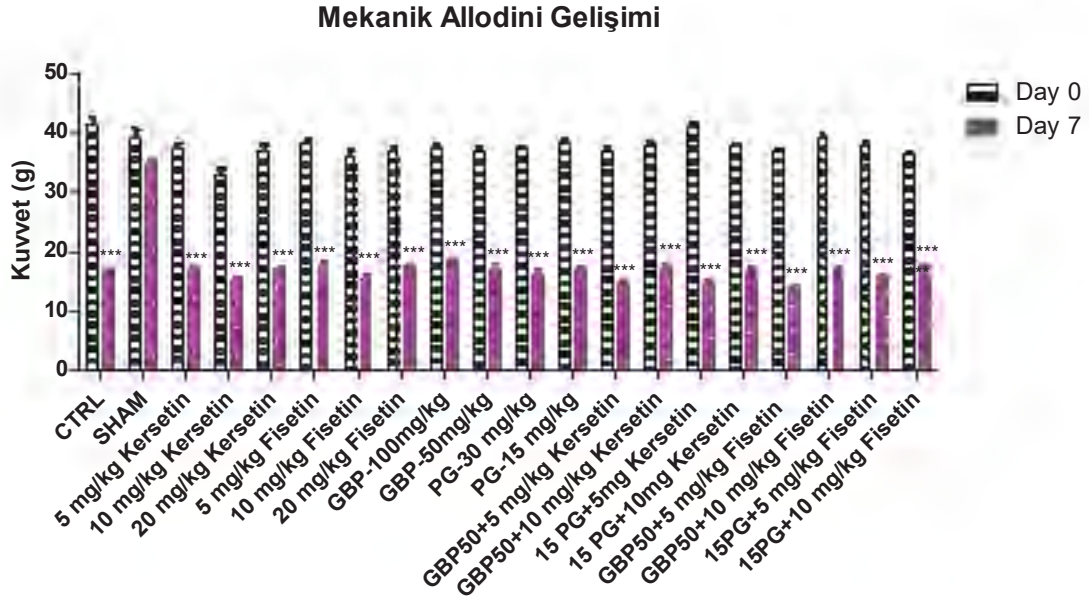
### **3.7. İstatiksel Analiz**

Hayvanlarda nöropatik ağrı gelişiminin ve etki analizi değerlendirme çalışmalarında çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulanmıştır. Lokomotor aktivite değişimin istatiksel değerlendirilmesi için tek-yönlü ANOVA ardından Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Graphpad Prism ver. 5.0 paket programı tüm istatiksel analiz sonuçlarında kullanılmıştır. Tüm analiz sonuçları  $\pm$ standart hata (S.H.) olarak ifade edilmiş ve istatiksel anlamlılık düzeyi başlangıcı olarak  $P < 0.05$  kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Deneysel Nöropati Gelişimi

KKH uygulanan grupların tamamında nöropati gelişimi gözlenmiştir ve Şekil 4.1'de görüldüğü üzere mekanik uyarana karşı ağrı eşiklerinde anlamlı ( $P<0.001$ ) bir düşüş gerçekleşmiştir. SHAM grubunda ise beklendiği üzere nöropati gelişmemiş ve mekanik ağrı eşiklerinde değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 4.1. Elektronik von Frey testinde nöropatik ağrı gelişiminin belirlenmesi

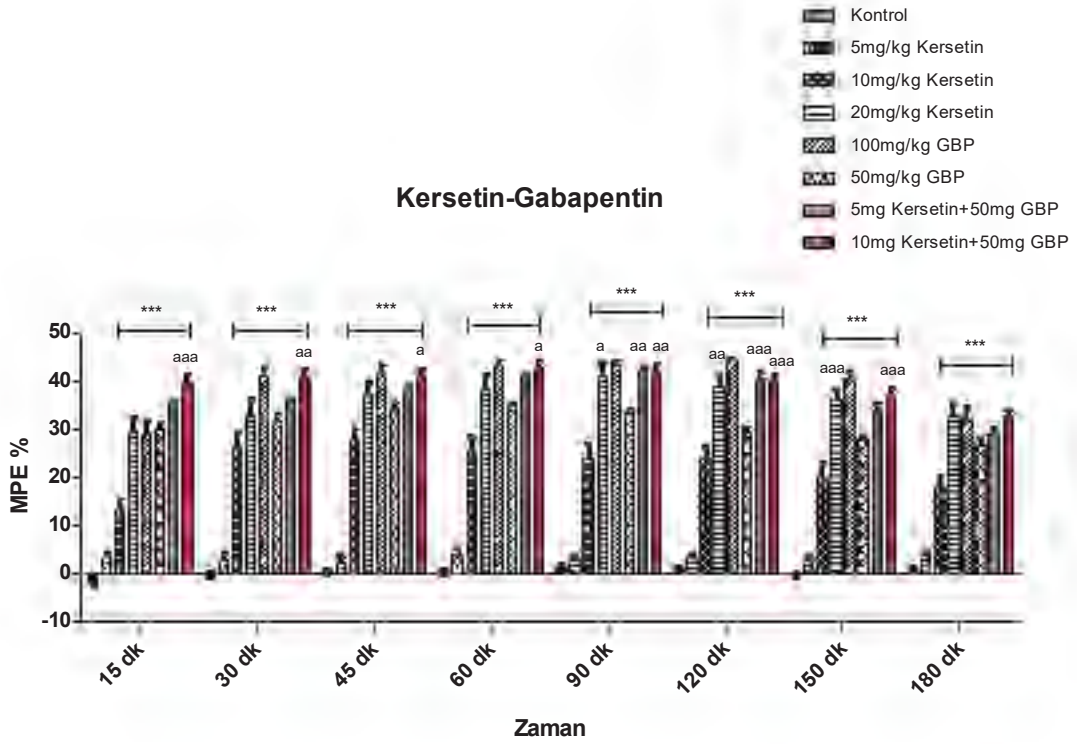
0. gün - 7. gün, \*\*\* $P<0.001$ ; 0. güne göre anlamlılık. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulandı. (n=8) CTRL: Kontrol, GBP: Gabapentin, PG: Pregabalin.

### 4.2. Anti-allodinik Aktivitenin Değerlendirilmesi

#### 4.2.1. Kersetin ve gabapentinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi

Kersetin 5, 10, 20 mg/kg dozlarında anti allodinik etkinliği ve 10 ile 20 mg/kg dozlarında kersetinin kontrole göre anlamlı antiallodinik etki gösterdiği Şekil 4.2'de görülmektedir. Aynı şekilde gabapentin dozlarının da (50 ve 100 mg/kg) kontrole göre anlamlı etki gösterdiği belirlenmiştir. 5 ve 10 mg/kg kersetin +50 mg/kg gabapentin kombinasyonlarında kontrole göre anlamlı etki göstermiştir. 50 mg gabapentin ile karşılaştırıldığında ise 10 mg/kg kersetin +50 mg/kg gabapentin kombinasyonununun 15-150. dk.'lar arasında anlamlı antiallodinik etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.2). 5

mg/kg kersetin+50 mg/kg gabapentin kombinasyonunun etkinliği ise 50 mg/kg gabapentin grubuna göre 90-120 dk aralığında anlamlıdır (90. dk  $P<0.01$ ; 120 dk  $P<0.001$ ). 20 mg/kg kersetin uygulanan gruba ait % MPE değerlerinin ise 50 mg/kg gabapentin grubuna göre 90-150 dk arası anlamlı olduğu belirlendi (90. dk  $P<0.05$ ; 120. dk  $P<0.01$  ve 150. dk  $P<0.001$ ).



Şekil 4.2. Kersetinin ve gabapentin + kersetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi

\*\*\* $P<0,001$ , \*\* $P<0,01$ , \* $P<0,05$ ; kontrole göre anlamlılık. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulanmıştır.

aaa $P<0,001$ , aa $P<0,01$ , a $P<0,05$ ; 50mg/kg GBP'e göre anlamlılık.

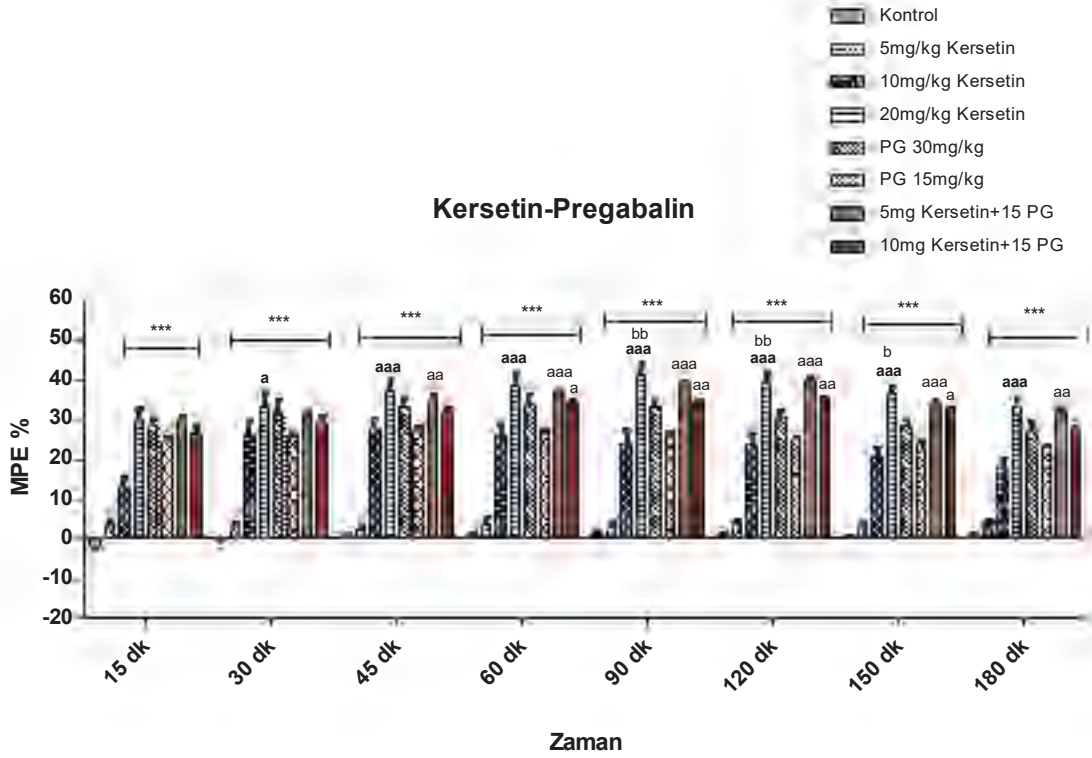
#### 4.2.2. Kersetin ve pregabalinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi

Şekil 4.3'te 15-180 dk zaman aralığı içerisinde 10, 20 mg/kg kersetin ve 15, 30 mg/kg pregabalin uygulanan grupların kontrol grubuna göre anlamlı ( $P<0.001$ ) anti allodinik etkisi olduğu görülmektedir.

5 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin ile 10 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin uygulanan grupların kontrol grubuna göre anlamlı ( $P<0.001$ ) farklılık

oluşturduğu belirlendi. 5 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin kombinasyonunun antiallodinik etkinliği 15 mg/kg pregabalin grubuna göre 45-180. dk aralığında anlamlı olarak arttı (60-150. dk. aralığında  $P<0.001$ ; 45. ve 180. dk  $^{aa}P<0.01$ ). 10 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin uygulanan grupta ise 15 mg/kg pregabalin grubuna göre 60-150 dk aralığında etkinin anlamlı olarak arttığı görülmektedir (60. ve 150. dk  $P<0.05$ ; 90. ve 120. dk  $P<0.01$ ).

20 mg/kg kersetin uygulanan gruptaki etkinlik değerlendirildiğinde ise 15 mg/kg pregabalin grubuna göre anlamlı olduğu görüldü (30. dk  $P<0.05$ ; 45-180. dk aralığında  $P<0.001$ ). 30 mg/kg pregabalin ile karşılaştırıldığında ise 90-150. dk aralığında anlamlı olduğu belirlendi (90-120. dk  $P<0.01$  ve 150. dk  $P<0.05$ ).



Şekil 4.3. Kersetinin ve pregabalin + kersetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi

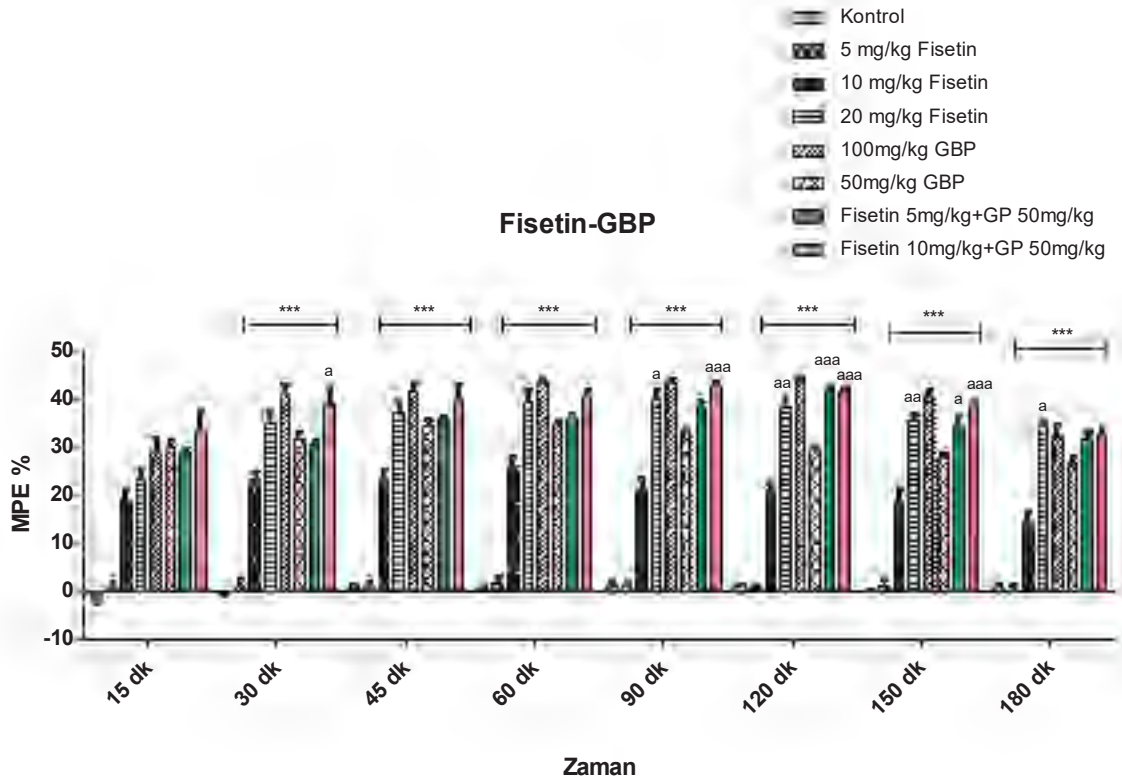
\*\*\* $P<0,001$ , \*\* $P<0,01$ , \* $P<0,05$ ; kontrole göre anlamlılık. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulanmıştır.

$^{aaa}P<0,001$ ,  $^{aa}P<0,01$ ,  $^aP<0,05$ ; 15mg/kg PG'e göre anlamlılık.

$^{bbb}P<0,001$ ,  $^{bb}P<0,01$ ,  $^bP<0,05$ ; 30mg/kg PG'e göre anlamlılık.

#### 4.2.3. Fisetin ve gabapentinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi

Fisetin 5, 10, 20 mg/kg dozlarda denenerek antiallodinik etkisi Şekil 4.4'te verilmiştir. Tüm dozlar kontrolle karşılaştırıldığında 10 ve 20 mg/kg dozlarda 30-180. dk aralığında anlamlı ( $P<0.001$ ) etki görülmüştür. Gabapentinin uygulanan dozları da tüm zamanlarda kontrole göre anlamlıdır ( $P<0.001$ ). 50 mg/kg gabapentin ile 5 mg/kg fisetin+50 mg/kg gabapentin kombinasyonu karşılaştırıldığında 120-150. dk arasında anlamlı (120. dk  $P<0.001$  ve 150. dk  $P<0.05$ ) etki bulunurken, 10 mg/kg fisetin+50 mg/kg gabapentin uygulan grupta ise 30. dk'da ( $P<0.05$ ) ve 90-150 dk aralığında anlamlı ( $P<0.001$ ) etki olduğu belirlenmiştir. 20 mg/kg fisetin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında ise 90-180. dk'lar arasında anlamlı (90. ve 180. dk  $P<0.05$ ; 120. ve 150. dk  $P<0.01$ ) etki görüldü.



Şekil 4.4. Fisetinin ve gabapentin + fisetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi

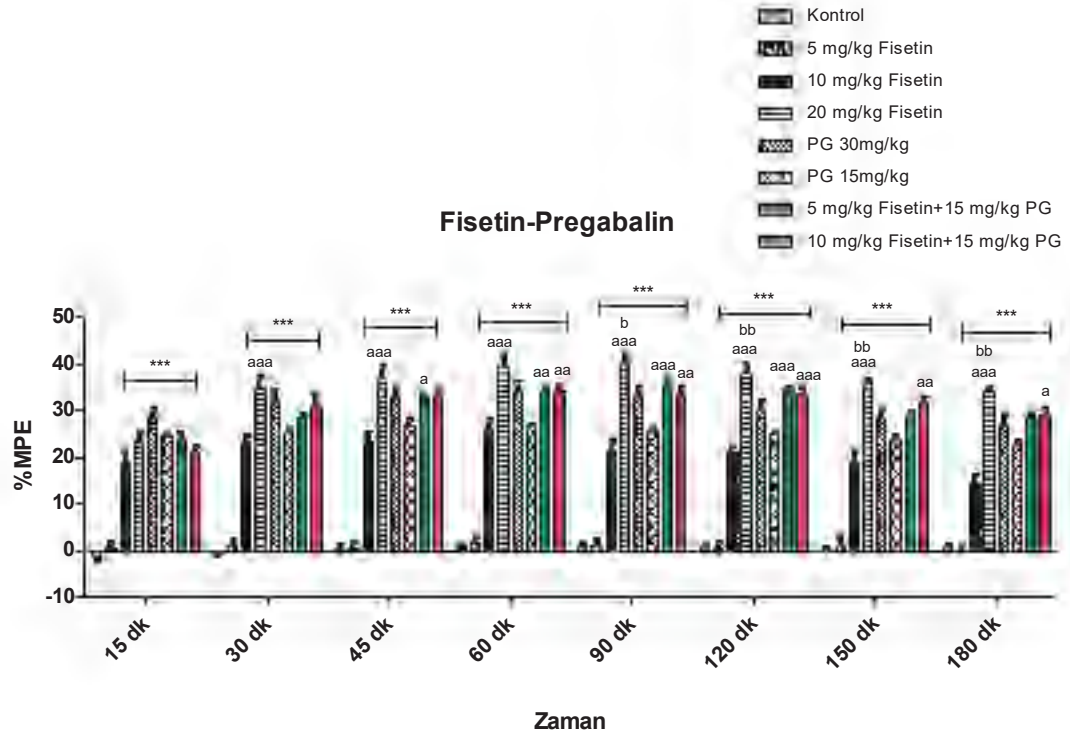
\*\*\* $P<0,001$ , \*\* $P<0,01$ , \* $P<0,05$ ; kontrole göre anlamlılık. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulanmıştır.

aaa $P<0,001$ , aa $P<0,01$ , a $P<0,05$ ; 50mg/kg GBP'e göre anlamlılık.

#### 4.2.4. Fisetin ve pregabalinin tekli ve kombine uygulamalarının antiallodinik aktivitesinin değerlendirilmesi

Fisetin 5, 10, 20 mg/kg dozlarda antiallodinik etkinliği ve 10 ile 20 mg/kg dozlarda fisetin kontrolüne göre anlamlı ( $P<0.001$ ) antiallodinik etki gösterdiği Şekil 4.5'te görülmektedir. Aynı şekilde pregabalin dozlarının da (15 ve 30 mg/kg) kontrolüne göre anlamlı ( $P<0.001$ ) etki gösterdiği belirlenmiştir.

5 ve 10 mg/kg fisetin+15 mg/kg pregabalin kombinasyonlarının kontrol grubuna göre anlamlı ( $P<0.001$ ) farklılık oluşturduğu belirlendi. 15 mg/kg pregabalin ile 5 mg/kg fisetin+15 mg/kg pregabalin kombinasyonu karşılaştırıldığında, antiallodinik etkinlik 45-120 dk aralığında anlamlı olarak arttı (45. dk  $P<0.05$ ; 60. dk  $P<0.01$ ; 90-120. dk  $P<0.001$ ). 10 mg/kg fisetin+15 mg/kg pregabalin ile kıyaslandığında ise, 60-180 dk aralığında etkinliğin anlamlı olarak arttığı görüldü (60., 90. ve 150. dk  $P<0.01$ ; 120. dk  $P<0.001$  ve 180. dk  $P<0.05$ ).



Şekil 4.5. Fisetinin ve pregabalin + fisetin kombinasyonunun anti-allodinik etkisinin değerlendirilmesi

\*\*\* $P<0,001$ , \*\* $P<0,01$ , \* $P<0,05$ ; kontrole göre anlamlılık. Çift-yönlü ANOVA ve ardından Bonferroni metodu uygulanmıştır.

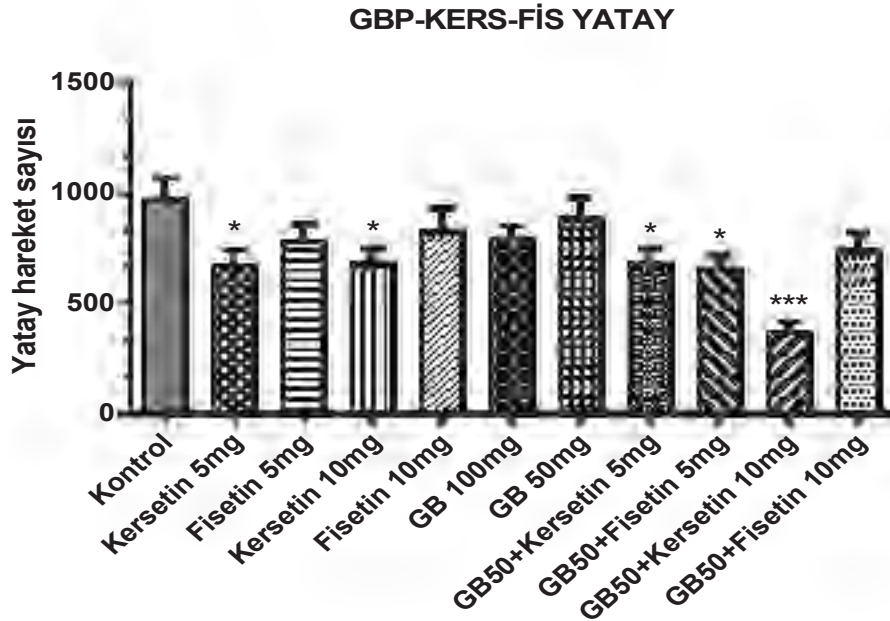
aaa $P<0,001$ , aa $P<0,01$ , a $P<0,05$ ; 15mg/kg PG'e göre anlamlılık;

bbb $P<0,001$ , bb $P<0,01$ , b $P<0,05$ ; 30mg/kg PG'e göre anlamlılık.

20 mg/kg fisetin uygulanan gruptaki etkinlik değerlendirildiğinde ise, 30-180 dk aralığında 15 mg/kg pregabalin grubuna göre anlamlı ( $P<0.001$ ) olduğu görüldü. 30 mg/kg pregabalin grubu ile kıyaslandığında, 90-180 dk'lar arasında anlamlı olduğu belirlendi (90. dk  $P<0.05$  ve 120-180. dk  $P<0.01$ ).

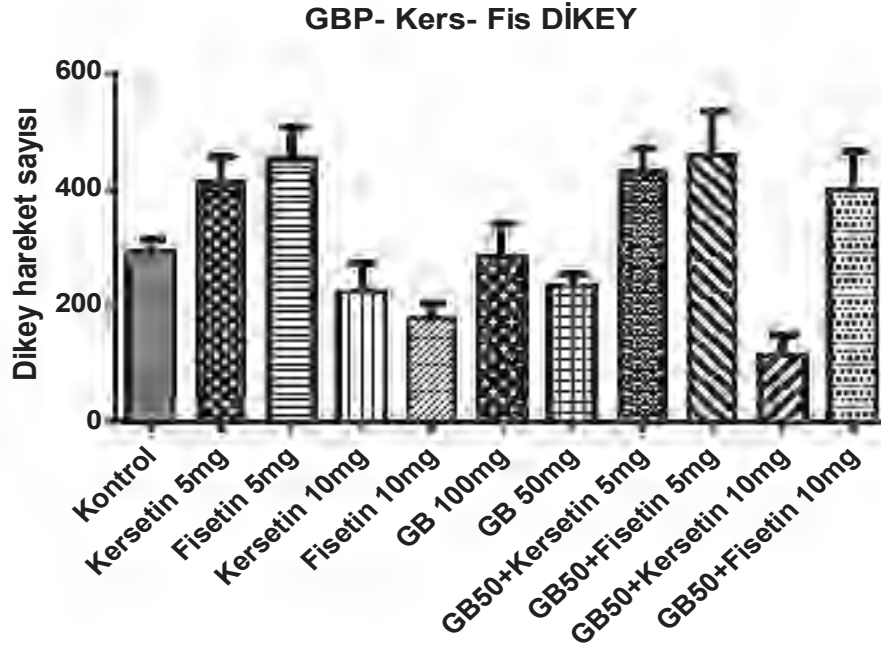
#### 4.3. Aktivite Kafesi ile Lokomotor Aktivite Değerlendirmesi

Kersetin ve fisetinin kombinasyonlarda uygulanan dozları (5 ve 10 mg/kg), gabapentin dozları (50 ve 100 mg/kg) ve kersetin ve fisetinle gabapentin kombinasyonlarına ait yatay lokomotor aktivite hareketlilik sonuçları şekil 4.6'da dikey hareketlilik sonuçları ise şekil 4.7'de görülmektedir. Yatay hareketlilikler kontrole göre karşılaştırıldığında kersetin 5 ve 10 mg/kg ( $P<0,05$ ) dozlarının, gabapentin (50 mg/kg) +kersetin 5 mg/kg, gabapentin (50 mg/kg)+fisetin (5 mg/kg) ve gabapentin (50 mg/kg)+kersetin (10 mg/kg) kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerinde anlamlı (sırasıyla;  $P<0,05$ ;  $P<0,05$ ;  $P<0,001$ ) etki gösterdiği belirlendi. Aynı şekilde dikey hareketlilikler kontrole göre değerlendirildiğinde anlamlılık görülmemekle birlikte 10 mg/kg kersetin ve 10mg/kg fisetin ile gabapentin (50 mg/kg) + kersetin (10 mg/kg) kombinasyon dozlarında lokomotor aktivitede göreceli bir düşüş belirlendi (Şekil 4.7).

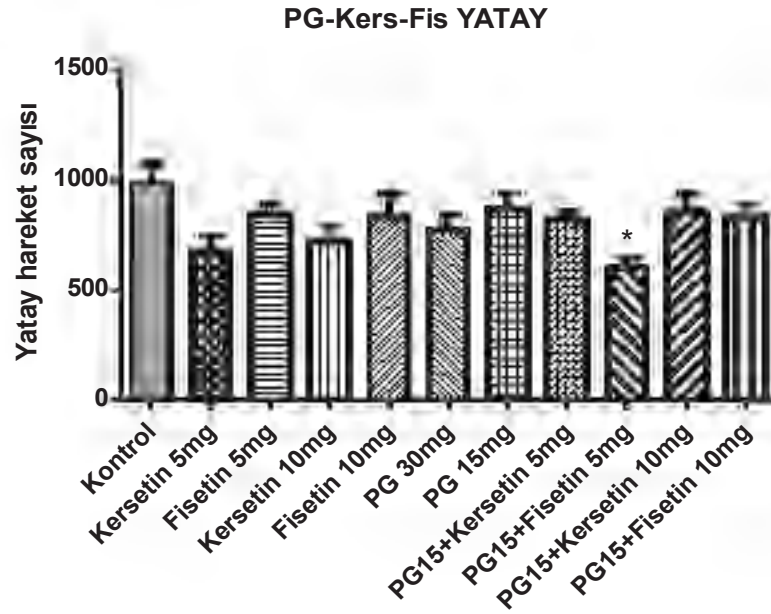


Şekil 4.6. Kersetin, Fisetin, GBP ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (yatay hareketlilik)

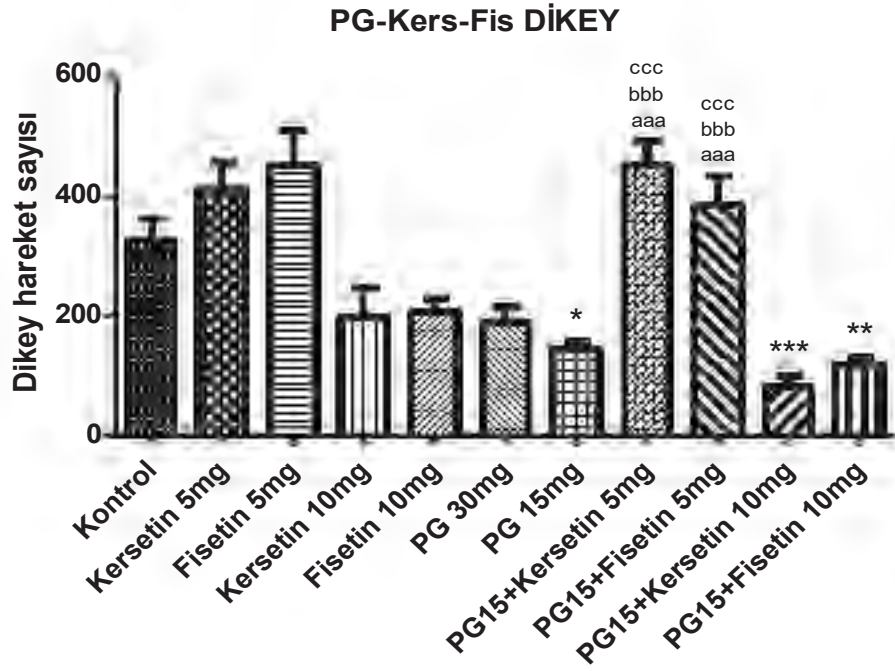
\*\*\* $P<0,001$ , \*\* $P<0,01$ , \* $P<0,05$ ; kontrole göre anlamlılık.



Şekil 4.7. Kersetin, Fisetin, GBP ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (dikey hareketlilik) \*\*\*P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05; kontrole göre anlamlılık.



Şekil 4.8. Kersetin, Fisetin, PG ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (yatay hareketlilik) \*\*\*P<0,001, \*\*P<0,01, \*P<0,05; kontrole göre anlamlılık.



**Şekil 4.9.** Kersetin, Fisetin, PG ve kombinasyonlarının lokomotor aktivite üzerine etkisi (dikey hareketlilik) \*\*\* $P < 0,001$ , \*\* $P < 0,01$ , \* $P < 0,05$ ; kontrole göre anlamlılık; aaa $P < 0,001$ ; PG15'e göre anlamlılık; bbb $P < 0,001$ ; PG15+Kersetin10mg/kg'e göre anlamlılık; ccc $P < 0,001$ ; PG15+Fisetin10mg/kg'e göre anlamlılık.

Pregabalin, kersetin ve fisetinin tek başına ve kombinasyonlu gruplarına ait veriler şekil 4.8. ve şekil 4.9.'da verilmiştir. Yatay hareketlilik değerlerine bakıldığında pregabalin (15 mg/kg) + Fisetin (5mg/kg) kontrole göre anlamlı lokomotor aktivite belirlendi. Dikey hareketliliğe bakıldığında pregabalin (15 mg/kg) ( $P < 0,05$ ), pregabalin (15 mg/kg) + kersetin (10 mg/kg) ( $P < 0,001$ ) ve pregabalin (15 mg/kg) + Fisetin (10 m/kg) ( $P < 0,01$ ) kontrole göre anlamlı etki gösterdi.

## 5. TARTIŞMA

Nöropatik ağrı ile ilişkili yapılan bu tez çalışmasında, insanlarda meydana gelen periferik nöropatiye en yakın model olduğu bildirilen KKH yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntem, güvenilir ve kolay tekrarlanabilir bir yöntem olmasıyla birlikte klinikte etkili olabilecek ilaçlarla ilgili güvenilir sonuçlar vermektedir (Jaggi vd, 2011; Challa, 2015). Nöropatik ağrının tipik özelliği olan allodini ve hiperaljezi, sinire verilen hasar sonucu A $\beta$  ve C liflerinde açığa çıkan duyarlılık artışına bağlı olarak ağrı oluşturmaktadır (Challa, 2015). Bu çalışmada, deney hayvanlarının mekanik allodini verileri invaziv işlem uygulanmadan önce mekanik uyarana karşı tepkinin ölçülmesine olanak tanıyan elektronik von Frey cihazı ile ölçülmüştür. Daha sonra, literatürlerde allodini ve hiperaljezi geliştiği belirtilen süre olan birinci haftanın sonunda (Jaggi vd, 2011) ağrı eşikleri tekrar ölçülerek değerlendirildiğinde sham grubu hariç diğer gruplarda mekanik uyarana karşı ağrı eşiklerinin düştüğü tespit edilmiştir. Dolayısıyla nöropatik ağrı modeli başarı ile geliştirildiği kabul edilmiştir. Başka bir deyişle, sinir hasarına bağlı olarak A $\beta$  liflerinde duyarlılık artışı ile allodini, C liflerindeki duyarlılık artışı ile hiperaljezi geliştiği gösterilmiştir (Baron, 2010; Jensen ve Finnerup, 2014; Challa, 2015).

Nöropatik ağrının patogenezi oldukça karmaşıktır. Bunu açıklamak için, çeşitli çalışmalarda nöropatik ağrıya neden olan nörojenik inflamasyon ve santral sensitizasyonla ilişkili patofizyolojik mekanizmalara odaklanılmakla birlikte çoklu mekanizmaların kombinasyonundan da kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Mekanizmaların çeşitliliği nedeniyle tedavisinde oldukça zordur (Quan vd., 2022). Ayrıca, nöroptik ağrıda klasik analjeziklere cevap da zayıftır (Curros-Criado ve Herrero, 2009). Bu nedenle sıklıkla pregabalin ve gabapentin gibi antikonvülzan ilaçlar nöropatik ağrı tedavisinde yaygın kullanılmaktadır. Ancak her iki ilaç da önemli yan etkilere sahiptir ve hastaların tedavisinde, sadece %50-60'ında etkili olduğu bildirilmektedir (Pineda-Farias vd., 2017). Nöropatik ağrı tedavisinde istenilen etkili ve güvenli tedavinin sağlanamayışı, bu hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek amacıyla yeni moleküllerin veya ilaç kombinasyonlarının araştırılmasına yol açmaktadır (Curros-Criado ve Herrero, 2009). Buradan yola çıkarak tez çalışmamızda etkili olabileceğini düşündüğümüz bitkisel aktif maddelerin tekli kullanımlarının yanısıra piyasada nöropatik ağrı tedavisinde yaygın kullanımı olan gabapentin ve pregabalinle farklı

dozlardaki kombinasyonlarının nöropatik ağrı tedavisindeki etkinliğini araştırmayı amaçladık.

Tez çalışmamızda, deneysel olarak nöropati geliştirilen sıçanlarda 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarda kersetin ve fisetinin antiallodinik etkisi çalışıldı ve buradan elde edilen verilere göre her iki madde de 10 ve 20 mg/kg dozlarda kontrole göre anlamlı antiallodinik etki gösterdi (Şekil 4.2. ve Şekil 4.4). Bu dozlar arasından 5 mg/kg ve 10mg/kg dozlar seçilerek gabapentin 50mg/kg ve pregabalin 15 mg/kg dozlarıyla kombine edilerek test edildi. Kombine uygulanan dozlar 50mg/kg gabapentin ile karşılaştırıldığında etkinin hem arttığı hem de etki süresinin uzadığı görülmektedir (Şekil 4.2 ve Şekil 4.4). 100mg/kg gabapentin ile karşılaştırıldığında da kombine uygulanan dozlarla birbirine yakın bir antiallodinik etki gösterdiği belirlendi.

Kersetin-gabapentin kombinasyonu değerlendirildiğinde 15-150. dk aralığında 10 mg/kg kersetin+50 mg/kg gabapentin kombinasyonunun 100 mg gabapentine yakın anti allodinik etki gösterdiği, 50 mg/kg gabapentin ile kıyaslandığında ise zamana bağlı olarak anlamlı etki gösterdiği şekil 4.2. görülmektedir. 5 mg/kg kersetin+50 mg/kg gabapentin kombinasyonunun ise 45. dakikadan itibaren hemen hemen tüm zamanlarda 100 mg/kg gabapentine yakın etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Araştırmamızın kersetin-pregabalin kombinasyonunun sonuçları şekil 4.3'te görülmektedir. Buna göre antiallodinik etkiyi 15-180. dk zaman aralığında değerlendirdiğimizde, 5 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin kombinasyonunun 45. dk dan sonra 30 mg/kg pregabalinden daha fazla etki gösterdiği, 10 mg/kg kersetin+15 mg/kg pregabalin kombinasyonunun ise bütün zamanlarda yakın veya fazla etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca 20 mg/kg kersetin uygulanan gruptaki etkinlik değerlendirildiğinde ise 15 mg/kg pregabalin grubuna göre anlamlı olduğu, 30 mg/kg pregabalin ile karşılaştırıldığında ise 90-150. dk aralığında da anlamlı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3).

Gabapentin ve pregabalinin nöropatik ağrı tedavisinde kullanımı sırasında sedasyon, baş dönmesi ödem ve kilo alımı gibi istenmeyen yan etkilerle sıklıkla karşılaşmaktadır. Bunun yanı sıra bu ilaçlar tek başına bazı durumlarda tedavide yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle bu ilaçların yanında farklı ilaçlar tedaviye eklenebilmektedir (http-5). Gabapentin ve nitro-parasetamol kombinasyonu ile yapılan bir araştırmada nöropatik sıçanlarda iki ilacın tek başına oluşturduğundan çok daha fazla antinosiseptif etki yaptığı gösterilmiştir ve bu iki etkin madde arsında sinerjistik

etki olduğu söylenebilmektedir (Curros-Criado ve Herrero, 2009). Bir diğer araştırmada gabapentinin düşük doz diklofenak veya selekoksib ile kombinasyonunun, KKH yapılan sıçanlarda sıcak plaka testindeki cevapta uzama ve aseton testinde pençe çekme sıklığında azalma yaparak tekli yüksek doz kullanımına göre daha yüksek analjezik etki gösterdiği bulunmuştur (İbrahim vd., 2018). Mixcoatl-Zecuatl vd., (2008)'nin SNL'li sıçanlarla yaptığı çalışmada, gabapentinin benfotiamin veya siyanokobalamin ile birlikte kullanımının motor koordinasyonu etkilemeksizin mekanik allodiniyi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Mixcoatl-Zecuatl vd., 2008). Periferik ve santral kronik nöropatik ağrı üzerine gabapentinin sinomenin ile kombinasyonunun etkililiği araştırılmıştır. Fare ve ratlarda yapılan bu çalışmada, bu maddelerin bizim araştırmamızdaki gibi sub-efektif dozlarındaki kombinasyonun antiallodinik etkisi ağrı davranış testleriyle gösterilmiştir. Bu etkinin nalokson ile bloke edilemediği dolayısıyla etki mekanizmasında opioid reseptörlerin rol oynamadığı bulunmuştur (Gao vd., 2019). Spinal kord ve siyatik sinir yaralanmasından sonra görülen nöropatik ağrı benzeri davranışların azalmasında gabapentin ve NMDA reseptör antagonistleri dekstrometorfan ve MK-801 arasındaki etkileşim araştırılmıştır. Bu çalışmada gabapentinin dekstrometorfan ile kombinasyonunun, mekanik ve soğuk alodiniye tam bir azalma sağladığı gösterilmiştir. Diğer bir NMDA reseptör antagonisti olan MK-801'in spinal yaralanmış sıçanlarda gabapentinin etkisini artırdığı da belirtilmiştir (Shi vd., 2018). Gabapentinin antinosiseptif etki mekanizmasının, GABA, NMDA, adenosin alıcısı ve L-arginin NO veya Ca<sup>2+</sup> kanalları üzerinden gösterdiği bildirilmektedir (Aydın vd., 2012).

Nöropatik ağrı tedavisinde antiepileptikler, antidepresanlar, opioid analjezikler gibi farklı ilaç grupları kullanılmasına rağmen, bu ilaçların tekli kullanımından çok memnun edici sonuçlar alınamamaktadır. Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlardan biri olan pregabalinin son 10 yılda ağrı kesici olarak kullanımının arttığı rapor edilmiştir. Pregabalin nöropatik ağrı tedavisinde de sıklıkla kullanılmaktadır. Pregabalin, duloksetin ve tramadol kombinasyonunun hem kronik postiskemik ağrılı hem de SNL'li farelerde mekanik hiperaljeziyi doza-bağlı şekilde önemli ölçüde hafiflettiği gösterilmiştir (Quan vd., 2022). Parsiyal siyatik sinir ligasyonu ile yapılan bir diğer çalışmada ise pregabalin ve kodein kombinasyonunun etkinliği araştırılmıştır ve bu çalışmada, nöropatik ağrılı hayvanlara 14 gün boyunca oral pregabalin-kodein kombinasyonunun verilmesiyle hem termal hem de mekanik hiperaljezide azalma

gösterilmiştir (Popa vd., 2016). KKH'lı sıçanlarda yapılan başka bir nöropatik ağrı çalışmasında, pregabalinin tekli ve duloksetin ve amitriptilin ile kombinasyonlarının etkinliği incelenmiştir. Bu çalışmaya göre; pregabalin en yüksek etkisini oral alımından 4 saat sonra göstermiş ve bu etkinin amitriptilin kombinasyonu ile 8 saate kadar uzayabildiğini belirlemişlerdir (Rodrigues vd., 2021).

Kersetin analjezik ve anti-inflamatuar etkisi bilinen önemli flavonoidlerden biridir. Kersetinin analjezik etkinliği farklı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Kersetin ile sıçan nöropatik ağrı modelinde yapılan bir çalışmada termal ve soğuk hiperaljeziyi azalttığını göstermişlerdir ve bu etkiye TLR sinyalizasyon inhibisyonunun aracılık ettiği belirtilmiştir (Ji vd., 2017). Yine kersetinle yapılan bir çalışmada, farelerde farklı kimyasal ve termal noisepsiyon modelleri kullanılarak kersetinin analjezik etkisine L-arginin-NO, 5-HT ve GABA<sub>A</sub>erjik sistemler ile etkileşiminin aracılık ettiği ileri sürülmektedir. Buna ek olarak; kersetinin analjezik etkisinin GABA<sub>A</sub> antagonisti bikukulin ve GABA<sub>B</sub> antagonisti baklofen ile geri çevrildiği de gösterilmiştir (Olinger ve Souza, 2008). Ayrıca kersetinin GABA<sub>C</sub> reseptör kanal aktivitesini, GABA'dan farklı bir bölge ile etkileşim yoluyla düzenlediği ve GABA<sub>C</sub> reseptörleri içinde modülatör olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Kim vd., 2015; Goutman ve Calvo, 2004). Diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada, kersetinin nöropatik ağrıyı azalttığı ve bu etkisine opioid mekanizmaların aracılık ettiği gösterilmiştir (Anjaneyulu ve Chopra, 2003). Diğer bir araştırmada ise diyabetik sıçanlarda kersetinin mekanik ve termal hiperaljeziyi hafifletmek için P2X<sub>4</sub> reseptör aracılı p38MAPK aktivasyonunu inhibe edebileceği ileri sürülmüştür (Yang vd., 2019). Bunun yanı sıra Çivi ve arkadaşları sıçanlarda KKH oluşturarak yaptıkları benzer bir çalışmada 100mg/kg dozda uygulanan kersetin 50 mg/kg gabapentin kadar etkili olduğu hem mekanik allodini testinde hem de termal hiperaljezide gösterilmiştir (Çivi vd., 2016).

Kersetin, pregabalin ve gabapentinin analjezik etki mekanizmaları benzer yollar üzerinden ve aynı zamanda farklı mekanizmaları da etkileyebildiği görülmektedir. Özellikle kersetinin anti-inflamatuar ve antioksidan etkisinin de rol oynayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bununla da bağlantı olarak; kersetinin IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerini etkili bir şekilde azalttığı ve oksidatif strese ROS üretimini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (Salehi vd., 2020). Kersetinin hem anti-inflamatuar hem de farklı ağrı yolları üzerinden karmaşık bir etki mekanizmasının

olduğu ve bununda kombine ilaç uygulamasında elde edilen etkiden sorumlu olduğu düşünölmüştür.

Çalışmamızda kullanılan bir diğer flavonoid olan fisetin antioksidan, analjezik ve anti-inflamatuar vb. etkiler göstermektedir (Shin vd., 2013; Pal vd., 2016; Yu vd., 2016; Wang vd., 2017; Kashyap vd., 2018; Yao vd., 2020). Elde ettiğimiz sonuçlara göre; fisetin (10 mg/kg)-gabapentin (50 mg/kg) kombinasyonu hemen hemen tüm zamanlarda 100 mg/kg gabapentine eşit düzeyde antiallodinik etki gösterdi. 50 mg/kg gabapentine göre ise hem fisetin (5 mg/kg)-gabapentin (50 mg/kg) hem de fisetin (10 mg/kg) - gabapentin (50 mg/kg) eşit ya da daha anlamlı antiallodinik etki gösterdi (şekil 4.4). Pregabalin-fisetin kombinasyonlarını değerlendirdiğimizde ise fisetin (5 mg/kg)-pregabalin (15 mg/kg) kombinasyonu 30. dk'dan itibaren fisetin (10mg/kg)-pregabalin (15mg/kg) kombinasyonu 45. dk'dan itibaren 15 mg/kg pregabaline göre anlamlı etki göstermiştir (şekil 4.5).

Yapılan çalışmalarla fisetinin kronik inflamasyonla ilişkili hayatı tehdit edici hastalıklarda *in vitro* sistemleri ve hayvan modellerinde inflamasyonu önleme potansiyeli gösterilmiştir (Pal vd., 2016). Fisetinin, LPS ile indöklenen sistemik inflamasyonda hipokampusta ve prefrontal kortekste proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) aşırı ekspresyonunu tersine çevirdiği gösterilmiştir. Üstelik yüksek dozda fisetinin, hipokampusta ve prefrontal kortekste NF- $\kappa$ B'nin modöasyonu yoluyla iNOS-mRNA ekspresyonunu ve nitrit seviyelerini etkili bir şekilde antagonize ettiği de belirtilmiştir (Yu vd., 2016). Streptozotosinle indöklenen diyabetli farelerin fisetin ile kronik tedavisi, termal hiperaljezi ve mekanik allodini semptomlarını iyileştirmiş ve aynı zamanda düşük dozlarda verildiğinde nöropatik ağrının gelişimini de durdurduğu gösterilmiştir. Fisetin analjezisinin antioksidan etkisinin yanısıra GABA<sub>A</sub> reseptörleriyle ilişkili olabileceğinden de bahsedilmiştir (Zhao vd., 2015b). KKH ile oluşturulan fare nöropatik ağrı modelinde kronik fisetin tedavisi (5, 15 veya 45 mg/kg, p.o.) uygulamasının termal hiperaljezide etkili olduğu ve bu etkinin serotonerjik sistemle ilişkili olduğu ileri sürölmüştür (Zhao vd., 2015a). Çalışmamızda etki mekanizması çalışılmamış olmakla birlikte fisetinin farklı yolaklar üzerinden olan etkisinin pregabalin ve gabapentinin etkilerini olumlu yönde etkilediği ve farklı mekanizmaların ve anti-inflamatuar etkisinin antiallodinik etkiye katkı sağladığı düşünölmektedir.

Aktivite kafesi deneylerinde yatay hareketlilikte gabapentin, kersetin ve fisetinin tek başına ve kombine uygulandığı dozlarda (50 mg/kg gabapentin+10 mg/kg kersetin

hariç) anlamlı bir fark görülmedi. Dikey hareketlilikte ise gabapentinli grupta kontrole göre anlamlı bir fark görülmedi. Pregabalinli grupta ise pregabalin (15 mg/kg)+ fisetin (5mg/kg) kontrole göre anlamlı fark gösterirken, dikey hareketlilikte ise pregabalin (15 mg/kg), pregabalin (15 mg/kg)+10 mg/kg kersetin ve pregabalin (15 mg/kg)+5 mg/kg fisetin gruplarında kontrole göre anlamlı fark belirlenmiştir. Aktivite kafesi deneyleri ile ölçülen yatay ve dikey hareketlilik denenen ilacın psikostimulan veya sedatif etkisi hakkında fikir vermektedir (Stevenson vd., 2009). Düşük dozlarla yapılan kombinasyonlarla elde edilen verilerde antiallodinik etkinin sedasyonla ilgisi olmadığının değerlendirilmesi açısından bu veriler yol göstericidir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında, KKH modeli ile nöropati geliştirilmiş sıçanlara i.p. olarak 5, 10, 20 mg/kg kersetin ve fisetin maddelerinin tekli veya gabapentin, pregabalin ile kombine uygulanması, nöropati gelişimi neticesinde düşen mekanik eşikleri yükselterek anti-allodinik etki göstermiştir. Ayrıca, anti-allodinik ve antihiperaljezik etkinliğin lokomotor aktiviteye çok fazla bağlı olmadan gerçekleşiyor olması çalışma farmakolojik etkinliğine avantaj olarak görülmektedir.

Bu çalışmada, daha önce nöropatik ağrı üzerinde detaylı olarak çalışılmamış olan fisetin ve kersetinin tekli ve gabapentin ve pregabalin maddeleriyle bir arada kullanımlarının nöropatik ağrı üzerindeki etkilerinin araştırılması bakımından özgün değere sahiptir ve etkinlik açısından yeni ilaç geliştirilmesine katkı sağlayan veriler sunmaktadır. Kombinasyon çalışmalarımızla nöropatik ağrı tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlar olan gabapentin ve pregabalinin daha düşük dozlarda flavonoidlerle birlikte kullanımında etkinliğinin artması ve etki süresinin uzaması sağlanmıştır. Böylelikle nöropatik ağrının giderilmesinde, ağrının eşlik ettiği birçok hastalıkta yeni bir tedavi yaklaşımı sunmakla birlikte, tedavide kullanımları olan ilaçların etkinliklerinin artırılıp yan etkilerinin azaltılmasında da yol gösterici olacaktır.

Nöroprotektif etkisi olan kersetin ve fisetinin nöropatik ağrı tedavisinde hem tek başlarına etkili olabilecekleri hem de kombine kullanımda yardımcı ilaç olarak yararlı olabilecekleri gösterilmiştir. Gabapentinoidlerin ve flavonoidlerin bir arada kullanımının etkililik bakımından yüksek doz monoterapiye göre daha yararlı olabileceği çalışmamızda gösterilmiştir. Bu maddelerin kombine kullanımı ile ilgili ilave çalışmalara gerek duyulmakla birlikte çalışmamız bu alanda öncül bir araştırma olarak kabul edilebilir.

## KAYNAKÇA

- Althunibat, O. Y., Al Hroob, A. M., Abukhalil, M. H., Germoush, M. O., Bin-Jumah, M., & Mahmoud, A. M. (2019). Fisetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in diabetic cardiomyopathy. *Life sciences*, 221, 83-92.
- Andres, S., Pevny, S., Ziegenhagen, R., Bakhiya, N., Schäfer, B., Hirsch-Ernst, K. I., & Lampen, A. (2018). Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. *Molecular nutrition & food research*, 62(1), 1700447.
- Anjaneyulu, M., & Chopra, K. (2003). Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*, 27(6), 1001-1005.
- Aydın, O. N., Ek, R. O., Temoçin, S., Uğur, B., Alaçam, B., & Şen, S. (2012). The antinociceptive effects of systemic administration of tramadol, gabapentin and their combination on mice model of acute pain. *Agri*, 24(2), 49-55
- Aydın, O. N. (2002). Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış.
- Azevedo, M. I., Pereira, A. F., Nogueira, R. B., Rolim, F. E., Brito, G. A., Wong, D. V. T., ... & Vale, M. L. (2013). The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Molecular pain*, 9, 1744-8069.
- Bai, L., Li, X., He, L., Zheng, Y., Lu, H., Li, J., ... & Li, J. (2019). Antidiabetic Potential of Flavonoids from Traditional Chinese Medicine: A Review. *The American journal of Chinese medicine*, 47(05), 933-957.
- Baron, R., Binder, A., & Wasner, G. (2010). Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *The Lancet Neurology*, 9(8), 807-819.
- Basu, P., & Basu, A. (2020). In Vitro and In Vivo Effects of Flavonoids on Peripheral Neuropathic Pain. *Molecules*, 25(5), 1171.
- Benedetti, F., Mayberg, H. S., Wager, T. D., Stohler, C. S., & Zubieta, J. K. (2005). Neurobiological mechanisms of the placebo effect. *Journal of Neuroscience*, 25(45), 10390-10402.
- Bingel, U., Wanigasekera, V., Wiech, K., Ni Mhuircheartaigh, R., Lee, M. C., Ploner, M., & Tracey, I. (2011). The effect of treatment expectation on drug efficacy: imaging the analgesic benefit of the opioid remifentanyl. *Science translational medicine*, 3(70), 70ra14-70ra14.
- Boots, A. W., Veith, C., Albrecht, C., Bartholome, R., Driittij, M. J., Claessen, S. M., ... & Schins, R. P. (2020). The dietary antioxidant quercetin reduces hallmarks of bleomycin-induced lung fibrogenesis in mice. *BMC Pulmonary Medicine*, 20(1), 1-16.

- Borghi, S. M., Mizokami, S. S., Pinho-Ribeiro, F. A., Fattori, V., Crespigio, J., Clemente-Napimoga, J. T., ... & Casagrande, R. (2018). The flavonoid quercetin inhibits titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>)-induced chronic arthritis in mice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 53, 81-95.
- Bourne, S., Machado, A. G., & Nagel, S. J. (2014). Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurgery Clinics*, 25(4), 629-638.
- Bushnell, M. C., Čeko, M., & Low, L. A. (2013). Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(7), 502-511.
- Carullo, G., Cappello, A. R., Frattaruolo, L., Badolato, M., Armentano, B., & Aiello, F. (2017). Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management. *Future medicinal chemistry*, 9(1), 79-93.
- Challa, S.R. (2015). Surgical animal models of neuropathic pain: Pros and Cons. *Int. J. Neurosci.*, 125(3), 170-174.
- Chen, F. F., Huo, F. Q., Xiong, H., Wan, Q., Zheng, Y. N., Du, W. J., & Mei, Z. N. (2015). Analgesic effect of total flavonoids from *Sanguis draxonis* on spared nerve injury rat model of neuropathic pain. *Phytomedicine*, 22(12), 1125-1132.
- Chung, T. W., Li, S., Lin, C. C., & Tsai, S. W. (2019). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the citrus flavanone naringenin. *Tzu-Chi Medical Journal*, 31(2), 81.
- Clauw, D. J., Essex, M. N., Pitman, V., & Jones, K. D. (2019). Reframing chronic pain as a disease, not a symptom: rationale and implications for pain management. *Postgraduate medicine*, 131(3), 185-198.
- Cohen, S. P., Vase, L., & Hooten, W. M. (2021). Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. *The Lancet*, 397(10289), 2082-2097.
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D., ... & Raja, S. N. (2017). Neuropathic pain. *Nature reviews Disease primers*, 3(1), 1-19.
- Crofford, L. J. (2015). Chronic pain: where the body meets the brain. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 126, 167.
- Curros-Criado, M. M., & Herrero, J. F. (2009). Antinociceptive effects of NCX-701 (nitro-paracetamol) in neuropathic rats: enhancement of antinociception by co-administration with gabapentin. *British journal of pharmacology*, 158(2), 601-609.
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Çapanoğlu, E., & Boyacıoğlu, D. (2009). Meyve ve Sebzelerin Flavonoid İçeriği Üzerine İşlemenin Etkisi. *Akademik Gıda* 7(6), 41-46.

- Çimen, M. B. Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 19(5), 296-304.
- Çivi, S., Emmez, G., Dere, Ü. A., Börcek, A. Ö., & Emmez, H. (2016). Effects of quercetin on chronic constriction nerve injury in an experimental rat model. *Acta neurochirurgica*, 158(5), 959-965.
- D'Andrea, G. (2015). Quercetin: a flavonol with multifaceted therapeutic applications?. *Fitoterapia*, 106, 256-271.
- Davis, M. P. (2007). What is new in neuropathic pain?. *Supportive care in cancer*, 15(4), 363-372.
- de Lavor, É. M., Leal, A. E. B. P., Fernandes, A. W. C., de Almeida Ribeiro, F. P. R., de Menezes Barbosa, J., e Silva, M. G., ... & de Menezes, I. R. A. (2018). Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast.(Passifloraceae) reduces nociceptive and inflammatory events in mice. *Phytomedicine*, 47, 58-68.
- da Silva Araújo, N. P., de Matos, N. A., Leticia Antunes Mota, S., Farias de Souza, A. B., Dantas Cangussú, S., Cunha Alvim de Menezes, R., & Silva Bezerra, F. (2020). Quercetin Attenuates Acute Lung Injury Caused by Cigarette Smoke Both In Vitro and In Vivo. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 1-10.
- Dong, B., Liu, C., Xue, R., Wang, Y., Sun, Y., Liang, Z., ... & Dai, G. (2018). Fisetin inhibits cardiac hypertrophy by suppressing oxidative stress. *The Journal of nutritional biochemistry*, 62, 221-229.
- Eid, H.M., & S Haddad, P. (2017). The antidiabetic potential of quercetin: underlying mechanisms. *Current medicinal chemistry*, 24(4), 355-364.
- Faggio, C., Sureda, A., Morabito, S., Sanches-Silva, A., Mocan, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *European journal of pharmacology*, 807, 91-101.
- Fan, H. R., Du, W. F., Zhu, T., Wu, Y. J., Liu, Y. M., Wang, Q., ... & Li, F. (2018). Quercetin reduces cortical GABAergic transmission and alleviates MK-801-induced hyperactivity. *EBioMedicine*, 34, 201-213.
- Fan, X., Du, K., Li, N., Zheng, Z., Qin, Y., Liu, J., ... & Su, Y. (2018). Evaluation of anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of luteolin in Mice. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(4).
- Fenton, B. W., Shih, E., & Zolton, J. (2015). The neurobiology of pain perception in normal and persistent pain. *Pain Management*, 5(4), 297-317.
- Finnerup, N. B., Attal, N., Haroutounian, S., McNicol, E., Baron, R., Dworkin, R. H., ... & Wallace, M. (2015). Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, 14(2), 162-173.

- Gao, T., Shi, T., Wiesenfeld-Hallin, Z., Li, T., Jiang, J. D., & Xu, X. J. (2019). Sinomenine facilitates the efficacy of gabapentin or ligustrazine hydrochloride in animal models of neuropathic pain. *European Journal of Pharmacology*, 854, 101-108.
- Gao, W., Zan, Y., Wang, Z. J. J., Hu, X. Y., & Huang, F. (2016). Quercetin ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain by stabilizing mast cells, and subsequently blocking PKC $\epsilon$ -dependent activation of TRPV1. *Acta Pharmacologica Sinica*, 37(9), 1166-1177.
- Gierthmühlen, J., & Baron, R. (2016, October). Neuropathic pain. In *Seminars in Neurology* (Vol. 36, No. 05, pp. 462-468). Thieme Medical Publishers.
- Gilron, I., Baron, R., & Jensen, T. (2015, April). Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 90, No. 4, pp. 532-545). Elsevier.
- Goutman, J. D., & Calvo, D. J. (2004). Studies on the mechanisms of action of picrotoxin, quercetin and pregnanolone at the GABA $\rho$ 1 receptor. *British journal of pharmacology*, 141(4), 717.
- Grynkiewicz, G., & Demchuk, O. M. (2019). New perspectives for fisetin. *Frontiers in chemistry*, 7, 697.
- Guerrero-Solano, J. A., Jaramillo-Morales, O. A., Velázquez-González, C., la O-Arciniega, D., Castañeda-Ovando, A., Betanzos-Cabrera, G., & Bautista, M. (2020). Pomegranate as a Potential Alternative of Pain Management: A Review. *Plants*, 9(4), 419.
- Higgs, J., Wasowski, C., Loscalzo, L. M., & Marder, M. (2013). In vitro binding affinities of a series of flavonoids for  $\mu$ -opioid receptors. Antinociceptive effect of the synthetic flavonoid 3, 3-dibromoflavanone in mice. *Neuropharmacology*, 72, 9-19.
- Hytti, M., Szabó, D., Piippo, N., Korhonen, E., Honkakoski, P., Kaarniranta, K., ... & Kauppinen, A. (2017). Two dietary polyphenols, fisetin, reduce inflammation but augment DNA damage-induced toxicity in human RPE cells. *The Journal of nutritional biochemistry*, 42, 37-42.
- Ibrahim, M. A., Abdelzaher, W. Y., Rofaeil, R. R., & Abdelwahab, S. (2018). Efficacy and safety of combined low doses of either diclofenac or celecoxib with gabapentin versus their single high dose in treatment of neuropathic pain in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 100, 267-274.
- Jaggi, A.S., Jain, V. and Singh, N. (2011). Animal models of neuropathic pain. *Fund. Clin. Pharmacol.*, 25(1), 1-28.
- Javed, S., Alam, U., & Malik, R. A. (2018). Mirogabalin and emerging therapies for diabetic neuropathy. *Journal of Pain Research*, 11, 1559.

- Javadi, F., Ahmadzadeh, A., Eghtesadi, S., Aryaeian, N., Zabihyeganeh, M., Rahimi Foroushani, A., & Jazayeri, S. (2017). The effect of quercetin on inflammatory factors and clinical symptoms in women with rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized controlled trial. *Journal of the American College of Nutrition*, 36(1), 9-15.
- Jensen, T. S., & Finnerup, N. B. (2014). Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanisms. *The Lancet Neurology*, 13(9), 924-935.
- Ji, C., Xu, Y., Han, F., Sun, D., Zhang, H., Li, X., ... & Wang, H. (2017). Quercetin alleviates thermal and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model by inhibiting Toll-like receptor signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94, 652-658.
- Jo, S., Kim, S., Shin, D. H., & Kim, M. S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35(1), 145-151.
- Kahraman, A., Serteser, M., & KOKEN, T. (2002). Flavonoidler. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3(1).
- Kashyap, D., Sharma, A., Sak, K., Tuli, H. S., Buttar, H. S., & Bishayee, A. (2018). Fisetin: A bioactive phytochemical with potential for cancer prevention and pharmacotherapy. *Life sciences*, 194, 75-87.
- Kaur, R., Singh, D., & Chopra, K. (2005). Participation of  $\alpha 2$  Receptors in the Antinociceptive Activity of Quercetin. *Journal of medicinal food*, 8(4), 529-532.
- Khan, M. S. A., Ahmed, N., Arifuddin, M., Zakaria, Z. A., Al-Sanea, M. M., Khundmiri, S. U. K., ... & Mok, P. L. (2018). Anti-nociceptive mechanisms of flavonoids-rich methanolic extract from *Terminalia coriacea* (Roxb.) Wight & Arn. leaves. *Food and chemical toxicology*, 115, 523-531.
- Kim, H. J., Lee, B. H., Choi, S. H., Jung, S. W., Kim, H. S., Lee, J. H., ... & Nah, S. Y. (2015). Differential effects of quercetin glycosides on GABAC receptor channel activity. *Archives of pharmacal research*, 38(1), 108-114.
- Kozłowska, A., & Szostak-Wegierek, D. (2014). Flavonoids-food sources and health benefits. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 65(2).
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., ... & Yin, Y. (2016). Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*, 8(3), 167.
- Lin, X., Peng, Q., Zhang, J., Li, X., Huang, J., Duan, S., & Zhang, W. (2020). Quercetin Prevents Lipopolysaccharide-Induced Experimental Preterm Labor in Mice and Increases Offspring Survival Rate. *Reproductive Sciences*, 1-11.

- Lopez-Trigo, J., & Sancho, J. R. (2006). Pregabalin. A new treatment for neuropathic pain. *Neurologia (Barcelona, Spain)*, 21(2), 96-103.
- Maher, P. (2017). of fisetin and other berry flavonoids in Parkinson's disease. *Food&function*, 8(9), 3033-3042.
- Marunaka, Y., Marunaka, R., Sun, H., Yamamoto, T., Kanamura, N., Inui, T., & Taruno, A. (2017). Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure. *Molecules*, 22(2), 209.
- Masuda, R., Ajimi, J., & Murata, T. (2017). Pharmacotherapy for neuropathic pain in Japan. *Journal of Nippon Medical School*, 84(6), 258-267.
- Mixcoatl-Zecuatl, T., Quiñónez-Bastidas, G. N., Caram-Salas, N. L., Ambriz-Tututi, M., Araiza-Saldaña, C. I., Rocha-González, H. I., ... & Granados-Soto, V. (2008). Synergistic antiallodynic interaction between gabapentin or carbamazepine and either benfotiamine or cyanocobalamin in neuropathic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 30(6), 431-41.
- Murnion, B. P. (2018). Neuropathic pain: current definition and review of drug treatment. *Australian prescriber*, 41(3), 60.
- Muto, N., Matsuoka, Y., Arakawa, K., Kurita, M., Omiya, H., Taniguchi, A., ... & Morimatsu, H. (2018). Quercetin Attenuates Neuropathic Pain in Rats with Spared Nerve Injury. *Acta Medica Okayama*, 72(5), 457-465.
- Naidu, P. S., Singh, A., & Kulkarni, S. K. (2003). D 2-dopamine receptor and  $\alpha$  2, adrenoreceptor-mediated analgesic response of quercetin. *Indian J Exp Biol*. 2003 Dec;41(12):1400-4.
- Nalamachu, S., & Morley-Forster, P. (2012). Diagnosing and managing postherpetic neuralgia. *Drugs & aging*, 29(11), 863-869.
- Nazemi, S., Jafari, F., Amin, B., Gholami, O., Kafami, M., & Mojadadi, M. S. (2021). Effect of Umbelliprenin on antinociceptive activity of morphine in a rat model of neuropathic pain induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve. *The Natural Products Journal*, 11(3), 392-399.
- Olinger, L., & de Souza, M. M. (2008). Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Archives of pharmacal research*, 31(6), 713-721.
- Orhan, A. E., Gündüz, Ö., Kaya, O., Sapmaz Metin, M., Tarladaçalışır, Y. T., & Şahin, E. (2016). Kersetinin Ratlarda, Yanık Staz Bölgesi Üzerindeki Etkisi.
- Pal, H. C., Pearlman, R. L., & Afaq, F. (2016). Fisetin and its role in chronic diseases. In *Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases* (pp. 213-244). Springer, Cham.
- Pehlivan, M., & Güleriyüz, M. (2004). Ahududu ve böğürtlenlerin insan sağlığı açısından önemi. *Bahçe*, 33(1).

- Pineda-Farias, J. B., Caram-Salas, N. L., Salinas-Abarca, A. B., Ocampo, J., & Granados-Soto, V. (2017). Ultra-low doses of naltrexone enhance the antiallodynic effect of pregabalin or gabapentin in neuropathic rats. *Drug Development Research*, 78(8), 371-380.
- Pinho-Ribeiro, F. A., Zarpelon, A. C., Fattori, V., Manchope, M. F., Mizokami, S. S., Casagrande, R., & Verri Jr, W. A. (2016). Naringenin reduces inflammatory pain in mice. *Neuropharmacology*, 105, 508-519.
- Pistoia, F., Sacco, S., Sarà, M., & Carolei, A. (2013). The perception of pain and its management in disorders of consciousness. *Current pain and headache reports*, 17(11), 1-10.
- Popa, G., Mititelu Tartau, L., Stoleriu, I., Lupusoru, R. V., Lupusoru, C. E., & Ochiuz, L. (2016). The effect of pregabalin-codeine combination on partial sciatic nerve ligation-induced peripheral mononeuropathy in rats. *J Physiol Pharmacol*, 67, 465-469.
- Quan, J., Lee, J. Y., Choi, H., Kim, Y. C., Yang, S., Jeong, J., & Park, H. J. (2022). Effect of Pregabalin Combined with Duloxetine and Tramadol on Allodynia in Chronic Postischemic Pain and Spinal Nerve Ligation Mouse Models. *Pharmaceutics*, 14(3), 670.
- Raney, E. B., Thankam, F. G., Dilisio, M. F., & Agrawal, D. K. (2017). Pain and the pathogenesis of biceps tendinopathy. *American journal of translational research*, 9(6), 2668.
- Rauf, A., Uddin, G., Siddiqui, B. S., Khan, H., Shah, S. U. A., Hadda, T. B., ... & Khan, A. (2016). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Pistacia integerrima* galls. *Complementary therapies in medicine*, 25, 132-138.
- Rodrigues, R. F., Kawano, T., Placido, R. V., Costa, L. H., Podesta, M., Santos, R. S., ... & Boralli, V. B. (2021). Investigation of the combination of pregabalin with duloxetine or amitriptyline on the pharmacokinetics and antiallodynic effect during neuropathic pain in rats. *Pain Physician*, 24(4), E511.
- Salehi, B., Machin, L., Monzote, L., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Salem, M. A., ... & Cho, W. C. (2020). Therapeutic potential of quercetin: new insights and perspectives for human health. *Acs Omega*, 5(20), 11849-11872.
- Sarbu, L. G., Bahrin, L. G., Babii, C., Stefan, M., & Birsa, M. L. (2019). Synthetic flavonoids with antimicrobial activity: a review. *Journal of applied microbiology*, 127(5), 1282-1290.
- Serafini, M., Peluso, I., & Raguzzini, A. (2010). Flavonoids as anti-inflammatory agents. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(3), 273-278.

- Shi, T., Hao, J. X., Wiesenfeld-Hallin, Z., & Xu, X. J. (2018). Gabapentin and NMDA receptor antagonists interacts synergistically to alleviate allodynia in two rat models of neuropathic pain. *Scandinavian Journal of Pain*, 18(4), 687-693.
- Shi, J. Y., Liu, G. S., Liu, L. F., Kuo, S. M., Ton, C. H., Wen, Z. H., ... & Tai, M. H. (2011). Glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer exerts protective effect on axons in sciatic nerve following constriction-induced peripheral nerve injury. *Human gene therapy*, 22(6), 721-731.
- Shin, M. J., Cho, Y., Moon, J., Jeon, H. J., Lee, S. M., & Chung, J. H. (2013). Hypocholesterolemic effect of daily fisetin supplementation in high fat fed Sprague-Dawley rats. *Food and chemical toxicology*, 57, 84-90.
- Shoab, M., Shah, A., Wadood, S., Ali, N., Umar, N., Shah, I., & Tahir, M. N. (2019). A possible mechanistic approach of synthetic flavonoids in the management of pain. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 32(3).
- Singh, H., Arora, R., Arora, S., Singh, B. (2017). Ameliorative potential of *Alstonia scholaris* (Linn.) R. Br. against chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(63), 1-9.
- Spagnuolo, C., Moccia, S., & Russo, G. L. (2018). Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 153,
- Stevenson, G. W., Cormier, J., Mercer, H., Adams, C., Dunbar, C., Negus, S. S., & Bilsky, E. J. (2009). Targeting pain-depressed behaviors in preclinical assays of pain and analgesia: drug effects on acetic acid-depressed locomotor activity in ICR mice. *Life sciences*, 85(7-8), 309-315.
- Świeboda, P., Filip, R., Prystupa, A., & Drozd, M. (2013). Assessment of pain: types, mechanism and treatment. *Pain*, 2(7).
- Şengül, D. Ö. Ü. E. (2019). *Sıçanlarda 5-florourasil ile indüklenen nefrotoksisitede kuersetin'in protektif etkileri* (Doctoral dissertation).
- Taşdemir, E., Arslan, R., & Türkmen, N. B. (2019) Antiepileptiklerin Nöropatik Ağrı Tedavisindeki Önemi. *Tıp ve Sağlık Bilimleri*, 43.
- Türkmen, N. Y., & Velioğlu, S. T. D. (2007). *Farklı sınıf çaylarda kıvrırma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi* (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı).
- Uyar, M., & Köken, İ. (2017). Kronik ağrı nörofizyolojisi. *TOTBİD Dergisi*, 16, 70-76.
- Wan, Y., Yu, Y., Pan, X., Mo, X., Gong, W., Liu, X., & Chen, S. (2019). Inhibition on acid-sensing ion channels and analgesic activities of flavonoids isolated from dragon's blood resin. *Phytotherapy Research*, 33(3), 718-727.

- Wang, Y., Wang, B., Lu, J., Shi, H., Gong, S., Wang, Y., ... & Xu, X. (2017). Fisetin provides antidepressant effects by activating the tropomyosin receptor kinase B signal pathway in mice. *Journal of neurochemistry*, 143(5), 561-568.
- Willain Filho, A., Cechinel Filho, V., Olinger, L., & de Souza, M. M. (2008). Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Archives of pharmacal research*, 31(6), 713-721.
- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain?. *The Journal of clinical investigation*, 120(11), 3742-3744.
- Xiong, H., Wang, J., Ran, Q., Lou, G., Peng, C., Gan, Q., ... & Huang, Q. (2019). Hesperidin: A Therapeutic Agent For Obesity. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 3855.
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6), 1123.
- Xu, L. J., Yu, M. H., Huang, C. Y., Niu, L. X., Wang, Y. F., Wu, C. Z., ... & Hu, X. (2018). Isoprenylated flavonoids from *Morus nigra* and their PPAR  $\gamma$  agonistic activities. *Fitoterapia*, 127, 109-114.
- Vazhappilly, C. G., Ansari, S. A., Al-Jaleeli, R., Al-Azawi, A. M., Ramadan, W. S., Menon, V., ... & Radhakrishnan, R. (2019). Role of flavonoids in thrombotic, cardiovascular, and inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*, 1-7.
- Yağcı, Ü., & Saygin, M. (2019). Ağrı fizyopatolojisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(2), 209-220.
- Yang, R., Li, L., Yuan, H., Liu, H., Gong, Y., Zou, L., ... & Zhao, S. (2019). Quercetin relieved diabetic neuropathic pain by inhibiting upregulated P2X4 receptor in dorsal root ganglia. *Journal of cellular physiology*, 234(3), 2756-2764.
- Yao, X., Li, L., Kandhare, A. D., Mukherjee-Kandhare, A. A., & Bodhankar, S. L. (2020). Attenuation of reserpine-induced fibromyalgia via ROS and serotonergic pathway modulation by fisetin, a plant flavonoid polyphenol. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(2), 1343-1355.
- Yousefzadeh, M. J., Zhu, Y., McGowan, S. J., Angelini, L., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Xu, M., ... & Mc Guckian, C. (2018). Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine*, 36, 18-28.
- Yu, X., Jiang, X., Zhang, X., Chen, Z., Xu, L., Chen, L., ... & Pan, J. (2016). The effects of fisetin on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice. *Metabolic brain disease*, 31(5), 1011-1021.
- Yücel, A., & Ağrı, Ç. A. N. (2005). Mekanizmalar, tanı ve tedavi. *Ağrı*, 17(1), 5-13.
- Zhang, G., Liu, N., Zhu, C., Ma, L., Yang, J., Du, J., ... & Yu, J. (2019). Antinociceptive effect of isoorientin against neuropathic pain induced by the

chronic constriction injury of the sciatic nerve in mice. *International immunopharmacology*, 75, 105753.

Zhao, L., Zhang, J., Pan, L., Chen, L., Wang, Y., Liu, X., ... & Hu, C. (2019). Protective effect of 7, 3', 4'-flavon-3-ol (fisetin) on acetaminophen-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo. *Phytomedicine*, 58, 152865.

Zhao, X., Wang, C., Cui, W. G., Ma, Q., & Zhou, W. H. (2015a). Fisetin exerts antihyperalgesic effect in a mouse model of neuropathic pain: engagement of spinal serotonergic system. *Scientific reports*, 5(1), 1-12.

Zhao, X., Li, X. L., Liu, X., Wang, C., Zhou, D. S., Ma, Q., ... & Hu, Z. Y. (2015b). Antinociceptive effects of fisetin against diabetic neuropathic pain in mice: Engagement of antioxidant mechanisms and spinal GABAA receptors. *Pharmacological research*, 102, 286-297.

Zhen, L., Zhu, J., Zhao, X., Huang, W., An, Y., Li, S., ... & Pan, J. (2012). The antidepressant-like effect of fisetin involves the serotonergic and noradrenergic system. *Behavioural brain research*, 228(2), 359-366.

http-1: <https://www.iasp-pain.org/group/neuropathic-pain-neupsig/> (Erişim tarihi: 12.02.2022)

http-2: <https://titck.gov.tr/storage/kubKtAttachments/ada9e46684150.pdf> 16.02.2022 (Erişim tarihi: 12.02.2022)

http-3: <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/#pain> (Erişim tarihi: 29.01.2022)

http-4: [https://www.tkneed.org/\\_media/DEYTARESELLER\\_tkneed/deytacatalog/content/files/agri%20.pdf](https://www.tkneed.org/_media/DEYTARESELLER_tkneed/deytacatalog/content/files/agri%20.pdf) (Erişim tarihi: 12.02.2022)

http-5: <https://www.noroloji.org.tr/TNDDData/Uploads/files/NOROPATIK%20AGRI%20ANI%20TED%20REHBERI.pdf> (Erişim tarihi: 21.12.2022)