

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**GLUKAGON-LIKE PEPTİD-1 (GLP-1) VE GLUKAGON-LIKE
PEPTİD-2 (GLP-2)'NİN AĞRI VE İNFLAMASYON ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Duygun ALTINTAŞ AYKAN

Trabzon, 2017

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**GLUKAGON-LIKE PEPTİD-1 (GLP-1) VE GLUKAGON-LIKE
PEPTİD-2 (GLP-2)'NİN AĞRI VE İNFLAMASYON ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Uzmanlık Tezi

Dr. Duygun ALTINTAŞ AYKAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. S. Murat KESİM

Trabzon, 2017

Herşey bir ağrıdır. Doğum ağrıdır, hastalık ağrıdır. Yaşlılık ağrıdır. Ölüm ağrıdır. Sevdiğinden ayrılmak ağrıdır, nefret bile ağrıdır.

Sidhatta Gotama (Buda)

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanmasında en büyük emeği geçen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Murat KESİM'e, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nuri İhsan KALYONCU'ya, bölümümüzden Sayın Prof. Dr. Ersin YARIŞ ve Sayın Doç. Dr. Mine KADIOĞLU DUMAN'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Engin YENİLMEZ'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR'a, Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Mukadder OKUYAN'a, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Ayhan BOZKURT'a, tezimin deneysel kısmında bana güç ve hız katan değerli arkadaşlarım Yük. Lis. Öğr. Beyza AYAN ve Arş. Gör. Ayşegül KURT'a, destek ve yardımlarıyla yanımda olan Arş. Gör. Esra ŞEKERCİ'ye, KTÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi çalışanları ve tüm teknik personele,

Tez çalışmamı TTU-2016-5451 ve ID:5451 numaralı proje ile destekleyen KTÜ Bilimsel Proje Araştırma (BAP) Birimi'ne,

Hayatım boyunca desteğini ve sevgisini esirgemeyen canım aileme, doktorluk mesleğimin tüm aşamalarında bana cesaret ve sabır veren eşim Çağrı'ya, mutluluk kaynaklarım canlarım Berke'me ve Cemre'me,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle...

Dr. Duygun ALTINTAŞ AYKAN

ÖZET

Glukagon-Like Peptid-1 (GLP-1) ve Glukagon-Like Peptid-2 (GLP-2)'nin Ağrı ve İnflamasyon Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması

Giriş: Bu çalışmanın amacı, farelerde GLP-1 ve GLP-2'nin nosisepsiyon ve inflamasyon üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: GLP-1 ve GLP-2'nin etkileri ve etki mekanizmaları akut ve kronik uygulamada hot plate ve formalin testlerinde değerlendirildi. Lökomotor aktivite ve kan şekeri düzeyinin bu etkilere katkısı olup olmadığını gözlemlemek için rotarod testi ve kan şekeri ölçüm kontrolleri yapıldı.

Bulgular: GLP-1 ve GLP-2 0.2 mg/kg dozlarında 30. dakikada antinosiseptif etkilerinde saline göre istatistiksel olarak anlamlı artış yaptılar. GLP-1'in 0.05 mg/kg dozunda 10. dakikada nosisepsiyon yönünde anlamlı değişiklik gözlemlendi. GLP-1'in 0,2 mg/kg, GLP-2'nin 0,2 mg/kg ve 0,1 mg/kg dozlarında akut ve tonik fazda pençe yalama ve sallama sayılarında (GLP-2 0,1 mg/kg akut fazda pençe yalama sayısı hariç), GLP-1'in 0.1 mg/kg'da tonik fazda pençe sallama sayısında, GLP-2'nin 0,05 mg/kg'da akut ve tonik fazda pençe sallama sayılarında saline göre anlamlı azalma oluşturdular. GLP-1'in 15. dakikada L-NAME varlığında, 30. dakikada ise ondansetron, L-NAME, nalokson varlığında; GLP-2'nin 30. dakikada ondansetron ve nalokson varlığında antinosiseptif etkilerinde anlamlı azalma görüldü. GLP-2'de L-NAME'in tüm fazlarda pençe yalama ve tonik fazda pençe sallama sayılarını, ondansetronun tonik fazda pençe sallama sayılarını anlamlı azalttığı görülürken, GLP-1'de sadece nalokson varlığında akut fazda pençe sallama hareketlerinde anlamlı artış görüldü. GLP-1 0.2 mg/kg ve GLP-2 0,05 mg/kg kronik uygulamada 10., 15. ve 30. dakikalarda antinosiseptif etkilerinde saline göre artış; tüm zaman aralıklarında pençe hareketlerinde (GLP-2 tonik fazda pençe sallama sayısı hariç) ise anlamlı azalma görüldü. GLP-1 ve GLP-2'nin lökomotor aktivite ve kan şekeri üzerine olan etkilerinin, antinosiseptif ve antiinflamatuvar aktivitelerini değiştirmediği saptandı.

Tartışma ve Sonuç: Çalışmamızda, GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerini ve bu etkilerinde serotonerjik, nitreerjik, opioidderjik yollarla ilgili olarak farklı sonuçları bulduk. Çalışmamızın devamında PKA bağımlı protein ekspresyonunu moleküler düzeyde araştırmayı ve bulduğumuz sonuçlara moleküler düzeyde açıklık getirmeyi hedeflemekteyiz.

Anahtar Kelimeler: GLP-1, GLP-2, ağrı, inflamasyon.

SUMMARY

Research of the Effects of Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) and Glucagon-Like Peptide-2 (GLP-2) on Pain and Inflammation

Introduction: The aim of this study is to investigate the effects of GLP-1 and GLP-2 on nociception and inflammation in mice with hot plate and formalin tests.

Methods: The effects and mechanisms of GLP-1 and GLP-2 were evaluated in acute and chronic administration, in hot plate and formalin tests. Rotarod test and blood glucose measurement were performed to check whether locomotor activity and blood glucose level contributed to these effects.

Results: GLP-1 and GLP-2 showed statistically significant increases in antinociceptive effects compared to saline at 0.2 mg/kg doses at 30. min. Significant change was observed in nociception at 10. min with GLP-1 0.05 mg/kg. Paw licking and shaking numbers of GLP-1 0.2 mg/kg, GLP-2 0,2 mg/kg and GLP-2 0,1 mg/kg at acute and tonic phases (except the paw licking after GLP-2 0.1 mg/kg dosage at acute phase), paw shaking number of GLP-1 0.1 mg/kg at tonic phase, and paw shaking number of GLP-2 0.05 mg/kg at acute and tonic phases were significantly decreased. The antinociceptive effects of GLP-1 in the presence of L-NAME at 15. min and in the presence of ondansetron, L-NAME and nalokson at 30. min, GLP-2 in the presence of ondansetron and nalokson at 30. min were significantly decreased. In GLP-2, paw licking numbers at acute and tonic phases, and paw shaking numbers at tonic phase with L-NAME, paw shaking numbers at tonic phase with ondansetron were significantly decreased while significant increase in paw shaking numbers at acute phase only with naloxon were seen at GLP-1. The antinociceptive effects of GLP-1 0.2 mg/kg and GLP-2 0.05 mg/kg after chronically administration were significantly increased at 10., 15., and 30. min compared to saline, while paw movement numbers (except paw shaking after GLP-2 at tonic phase) were significantly decreased at all time intervals compared to saline. The effects of GLP-1 and GLP-2 on locomotor activity and blood glucose levels did not alter antinociceptive and antiinflammatory activities.

Conclusion and Results: In this study, we found antinociceptive and antiinflammatory effects of GLP-1 and GLP-2, and different results about serotonergic, nitrenergic and opioidergic pathways. As a further study, we aim to investigate PKA-dependent protein expression at the molecular level to clarify the results we have found.

Key Words: GLP-1, GLP-2, pain, inflammation.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ağrı.....	2
2.1.1. Tanım.....	2
2.1.2. Ağrı Sınıflandırılması	2
2.1.3. Ağrı Algılanması ve İletimi	4
2.1.4. Nosiseptörler.....	4
2.1.5. Santral Sinir Sisteminde Ağrı İletimi.....	5
2.2. İnflamasyon	7
2.2.1. Tanım ve Genel Özellikler.....	7
2.2.2. İnflamasyon Tipleri.....	8
2.3. İncretinler, Proglukagon, GLP-1, GLP-2	9
2.3.1. İncretinler.....	9
2.3.2. Proglukagon	10
2.3.3. GLP-1.....	11
2.3.4. GLP-2.....	12
2.4. Serotonerjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü.....	14
2.5. Nitreerjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü.....	15
2.6. Opioiderjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Davranış Testleri	20
3.1.1. Termal Uyarı ile Oluşturulan Ağrı Modeli (Hot Plate Testi)	20

3.1.2. Kimyasal Uyarı ile Oluşturulan İnflamasyon Modeli (Formalin Testi)	21
3.1.3. Peççe Ölçümleri.....	22
3.1.4. Rotarod Testi ve Kan Şekeri Ölçümü	23
3.2. Çalışma Protokolü	23
3.2.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Hot Plate Testinde Antinosiseptif Etkisinin Araştırılması.....	24
3.2.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Formalin Testinde Antiinflamatuvar Etkisinin Araştırılması.....	24
3.2.3. GLP-1 ve GLP-2'nin Antinosiseptif ve Antiinflamatuvar Etki Mekanizmasının Antagonistlerle Çalışılması Protokolü	25
3.3. Deney Grupları	26
3.4. GLP-1 ve GLP-2'nin Lökomotor Aktivite ve Kan Şekeri Ölçümüne Olan Etkilerinin İncelenmesi.....	29
3.5. İlaçların Hazırlanması	30
3.6. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Akut Uygulama Sonrasındaki Etkilerinin Araştırılmasının Sonuçları.....	31
4.1.1. GLP-1'in Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testi ile Araştırılmasının Sonuçları	31
4.1.2. GLP-2'nin Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testi ile Araştırılmasının Sonuçları	33
4.1.3. GLP-1'in Antiinflamatuvar Etkisinin Formalin Testinde Araştırılmasının Sonuçları	35
4.1.4. GLP-2'nin Antiinflamatuvar Etkisinin Formalin Testinde Araştırılmasının Sonuçları	40
4.1.5. GLP-1'in Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Mekanizmasının Araştırılması.....	45
4.1.6. GLP-2'nin Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Mekanizmasının Araştırılması.....	47

4.1.7. GLP-1'in Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Mekanizmasının Araştırılması	49
4.1.8. GLP-2'in Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Mekanizmasının Araştırılması	53
4.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasındaki Etkilerinin Araştırılmasının Sonuçları.....	57
4.2.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasında Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Araştırılması.....	57
4.2.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasında Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Araştırılması	59
4.3. GLP-1 ve GLP-2'nin Rotarod Testi ve Kan Şekeri Ölçümüne Olan Etkilerinin İncelenmesinin Sonuçları	63
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ	74
7. KAYNAKLAR	75

KISALTMALAR LİSTESİ

ACR	: Amerikan Romatoloji Koleji (The American College of Rheumatology)
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AP-1	: Aktivatör Protein-1
BAMP	: Bovin Adrenal Medulla Peptit
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CFA	: Complete Freund's Adjuvant
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
COX-2	: Siklooksijenaz-2
CXCL-10	: C-X-C Motif Kemokin Ligand-10
DM	: Diyabetes Mellitus
DPP-4	: Dipeptidil peptidaz-4
DSM-IV	: Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı 4. baskı (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition)
EDRF	: Endotelyum Kaynaklı Gevşetici Faktör
EGF	: Epiteyal Büyüme Faktörü
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ERK	: Ekstrasellüler Sinyal İlişkili Kinaz
GAPDH	: Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrogenaz
GIP	: Gastrik İnhibitör Polipeptid
GIS	: Gastrointestinal Sistem
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptid-1
GLP-1R	: Glukagon Benzeri Peptid -1 Reseptörü
GLP-2	: Glukagon Benzeri Peptid -2
GLP-2R	: Glukagon Benzeri Peptid -2 Reseptörü
GRPP	: Glisentim-Bağımlı Pankreatik Polipeptit
HIF-1	: Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1
Hsp 90	: Isı Şok Proteini 90
IASP	: Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain)
ICAM	: İnterselüler Hücre Adezyon Molekülü
IFN γ	: İnterferon Gamma

IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IL-1	: İnterlökin-1
IP-1	: İntervening Peptid-1
i.p	: İnteraperitoneal
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
JNK	: c-Jun N-terminal kinazlar
KGF	: Keratinosit Büyüme Faktörü
L-NA	: N-Nitro-L-Arjinin
L-NAME	: Nitro-L-Arjinin Metil Esteri
LPS	: Lipopolisakkarit
MAO	: MonoaminOksidaz
MAPK	: Mitojenle-Aktive olan Protein Kinaz
Mcp-1	: MonositKemoatraktan Protein
MPE	: Maksimum Olası Etki (Maximum PossibleEffect)
NCAM	: Nöral Hücre Adezyon Molekülü
NFκB	: Nükleer Faktör Kappa B
nNOS	: NöronalNitrik Oksit Sentaz
NO	: NitrikOksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
PAG	: Periakuaduktal Gri Madde
PI3K	: Fosfotidil inozitol 3-kinaz
PKA	: Protein Kinaz A
PKG	: Protein Kinaz G
PL C	: Fosfolipaz C
POMK	: Proopiomelanokortin
s.c	: Subkütan
SERCA	: Sarkoplazmik Endoplazmik Retikulum Ca ⁺² – ATPaz
SOCS-3	: Sitokin Sinyal Baskılayıcıları (Suppressors of Cytokine Signaling)
SSS	: Santral Sinir Sistemi
STAT-3	: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü-3 (Signal Transducer and Activator of Transcription-3)
TGF- β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü- β

- TNF α : Tumor Nekrozitan Faktör
- TRPV1 : Geçici Reseptör Potansiyeli Vanilloid Alt grubu-1 (Transient Receptor Potential Vanilloid Subfamily, member-1)
- VCAM : Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
- VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
- VIP : Vazoaktif Intestinal Peptit
- 5-HT : 5-Hidroksi Triptamin



TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. GLP-1 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	31
Tablo 2. GLP-2 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	33
Tablo 3. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Penęe Yalama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	35
Tablo 4. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Penęe Sallama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	36
Tablo 5. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Penęe Yalama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	37
Tablo 6. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Penęe Sallama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	38
Tablo 7. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Penęe aplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	39
Tablo 8. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Penęe Yalama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	40
Tablo 9. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Penęe Sallama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	41
Tablo 10. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Penęe Yalama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	42

Tablo 11. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	43
Tablo 12. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Pençe Çaplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	44
Tablo 13. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında Hot Plate Testinde % MPE Değerlerinin Karşılaştırılması.....	45
Tablo 14. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında Hot Plate Testinde % MPE Değerlerinin Karşılaştırılması.....	47
Tablo 15. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması	49
Tablo 16. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması	50
Tablo 17. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması.....	51
Tablo 18. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması	52
Tablo 19. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması.....	53
Tablo 20. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması	54

Tablo 21. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması.....	55
Tablo 22. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 Mg/Kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması	56
Tablo 23. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 Gün Süreyle Kronik Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Hot Plate Testinde Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	57
Tablo 24. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 Gün Süreyle Kronik Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar ve 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama ve Sallama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	59
Tablo 25. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Pençe Çaplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	62
Tablo 26. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin Rotarod Testinde Lökomotor Aktivitelerinin İlaç Öncesi Ve İlaç Sonrası Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması	63
Tablo 27. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin Rotarod Egzersizi Sonrasında Kan Şekeri Ölçümlerinin İlaç Öncesi Ve İlaç Sonrası Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.....	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.	Proglukagonun translasyon sonrası ürünleri.....	11
Şekil 2.	Hot plate deney düzeneği	21
Şekil 3.	Pençe çapı ölçüm aleti (Kumpas)	22
Şekil 4.	Hot plate testi protokolü	24
Şekil 5.	Formalin testi protokolü	25
Şekil 6.	Hot plate testinde GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif etkilerinin mekanizmalarının araştırılmasında uygulanan protokol.....	25
Şekil 7.	Formalin testinde GLP-1 ve GLP-2'nin antiinflamatuvar etkilerinin mekanizmalarının araştırılmasında uygulanan protokol.....	26
Şekil 8.	GLP-1 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerlerinin salin grubuna göre hot plate testinde karşılaştırılması	32
Şekil 9.	GLP-2 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerlerinin salin grubuna göre hot plate testinde karşılaştırılması	34
Şekil 10.	GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması.....	35
Şekil 11.	GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması.....	36
Şekil 12.	GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması.....	37
Şekil 13.	GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması.....	38
Şekil 14.	GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması.....	39

Şekil 15. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması.....	40
Şekil 16. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması.....	41
Şekil 17. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması.....	42
Şekil 18. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması.....	43
Şekil 19. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması.....	44
Şekil 20. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında hot plate testinde % MPE değerlerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 21. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında hot plate testinde % MPE değerlerinin karşılaştırılması.....	48
Şekil 22. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	49
Şekil 23. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	50
Şekil 24. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	51

Şekil 25. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması	52
Şekil 26. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	53
Şekil 27. GLP-2 (0,05 mg/kg)'nin ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	54
Şekil 28. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe Yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması	55
Şekil 29. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe Sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması.....	56
Şekil 30. GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin % MPE değerlerinin hot plate testinde salin grubuna göre karşılaştırılması	58
Şekil 31. GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg)14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması	60
Şekil 32. GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg)14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması	61
Şekil 33. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması.....	62

1. GİRİŞ

Ağrı, gerçek veya potansiyel doku hasarı veya benzer hasarlanma sonrasında hoş olmayan duyuşsal ve duygusal deneyim olarak tanımlanır (1). İnflamasyon, immünolojik veya immünolojik olmayan herhangi bir zedeleyici uyarana karşı vücudun fizyolojik, özgül olmayan bir savunma yanıtıdır (2). Bu iki kavram, hastalıkların biyolojik temelinde yer almaları, birbirinden bağımsız olmamaları ve patogeneşlerinde ortak faktörlerin bulunması sebebiyle genellikle bir arada tanımlanır.

Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1), proglukagon ailesine dahil olan peptid yapıda bir moleküldür. Gastrointestinal sistemde enteroendokrin hücrelerden glukagon benzeri peptid-2 (GLP-2) ile birlikte salınır. Günümüzde tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan GLP-1'in kronik ağrı, periferik nöropati ağrısı, kansere bağılı ağrı ve diyabetik ağrıda inflamasyonu önleyici ve ağrıyı azaltıcı etkileri olduğı bilinmektedir. GLP-2'nin ağrı ve inflamasyon üzerine etkileri GLP-1 kadar araştırılmamıştır. GLP-2'nin yara iyileşmesinde, santral sinir sistemi patolojilerinde nöroprotektif etkilerinin olduğı, bağırsak hareketlerinin düzenlenmesinde, gıda emilimi ve mukozal inflamasyonda rol oynadığı yapılan sınırlı sayıda çalışmada gösterilmiştir.

Biz çalışmamızda; GLP-1 ve GLP-2'nin, akut ve kronik uygulanım sonrası farelerde deneysel ağrı ve inflamasyon modelleri üzerindeki etkilerini ve bu etkilerin mekanizmalarını araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

2.1.1. Tanım

Ağrı, çok faktörlü karmaşık bir duyudur. Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılmış olan tanıma göre ağrı, gerçek veya potansiyel doku hasarı veya benzer hasarlanma sonrasında hoş olmayan duyuşsal ve duygusal deneyim olarak tanımlanır (1).

2.1.2. Ağrı Sınıflandırılması

Ağrı; mekanizmalarına, sürelerine veya kaynaklandığı bölgelere göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir.

Mekanizmalarına göre;

a. Nosiseptif Ağrı: Fizyopatolojik olayların deri, kas, bağ dokusu ve iç organlardaki ağrı algılayıcıları olan nosiseptörleri uyarmaları sonucu ortaya çıkan ağrıdır. Somatik ve visseral ağrı olarak 2'ye ayrılır. Somatik ağrı vücut dokularına olan hasardan ileri gelir, iyi lokalize edilir, fakat tanım ve deneyimde değişiklik gösterir. Visseral ağrı, gerim reseptörlerinin algılamasıyla oluşur, zayıf lokalize edilir, derin ve kramp tarzında hissedilir (3).

b. Nöropatik ağrı: Sinir sistemindeki hastalık, hasar veya fonksiyon bozukluğuna ikincil olarak anormal nöral aktivite sonucu oluşan ağrıdır.

Alt tipleri:

- Sempatik medyatörlü ağrı: Periferal sinir hasarı ve bağlı otonomik değişimlerden kaynaklanır (örn. refleks sempatik distrofi).
- Periferal nöropatik ağrı: Otonomik değişim olmaksızın oluşan periferal sinir hasarından kaynaklanır (örn. postherpetik nevralji).
- Santral ağrı: Anormal santral sinir sistemi aktivitesinden kaynaklanır (örn. spinal kord hasarlı ağrılar, inme sonrası ağrı).

Tek sinir lifi etkilenmişse mononöropati, vücudun değişik alanlarından birçok sinir lifi etkilenmişse mononöropati multipleks, semptomlar difüz ve bilaterale polinöropati denilir (4,5).

c. Deaferentasyon ağrısı: Periferik veya santral sinir sistemindeki lezyonlara bağlı olarak somatosensoryal uyarıların santral sinir sistemindeki iletiminin kesilmesine bağlı olarak ortaya çıkar. Bir anlamda sinirin elektriksel deşarjında kısa devreler meydana gelmekte ve bu kısa devreler bir odak olarak ağrıya yol açmaktadır. Yanıcı özelliindedir.

d. Reaktif ağrı: Vücudun çeşitli olaylara karşı bir reaksiyonu olarak, motor ve sempatik afferentlerin refleks aktivasyonu sonucu nosiseptörlerin uyarılması ile ortaya çıkan ağrıdır (örn. miyofasiyal ağrılar).

e. Psikosomatik ağrı: Hastanın psikososyal veya psikik sorunlarını ağrı biçiminde algılaması, ifade etmesidir.

Süresine göre;

a. Akut Ağrı: Cerrahi, travma veya akut hastalıkta oluşan kimyasal, termal veya mekanik stimulusa karşı gösterilen normal fizyolojik yanıt olarak tanımlanmaktadır. Çok faktörlü bir duyumsama olan akut ağrı, motivasyonel ve emosyonel mekanizmalardan olan kaçma ve diğer tepkisel davranışları içerir. Söz konusu duyusal, motivasyonel ve bilişsel mekanizmalar; motor yanıtları etkileyerek ağrıyı karakterize eden davranışı belirler.

b. Kronik Ağrı: Yaralanma veya doku hasarı sonrasında vücudun iyileşmesi için gereken süreden fazla süren ağrı olarak tanımlanmaktadır (6).

Kronik ağrının çeşitli şekillerde tanımlandığı görülmektedir. “Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (IASP)”a göre kronik ağrı süre ve uygunluğa göre tanımlanmakta olup, biyolojik değeri olmayan, normal dokunun iyileşmesi için gereken süre olan üç ay süren ağrıdır (7). “Amerikan Romatoloji Koleji (ACR)” ise kronik ağrıyı en az üç ay süren yaygın veya bölgesel (vücudun sağ ve sol yanlarında, bel bölgesinin üst ve alt kısmında, aksiyel iskelette lokalize) ağrı olarak tanımlar (8). “Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, 4. baskı (DSM-IV)”ise kronik ağrıyı altı ay süreyle persiste eden ağrı olarak tanımlar (9).

c. Subakut Ağrı: Altı aydan daha kısa süreyle mevcut olan, fakat beklenen iyileşme süresince süregelen ağrılar klinikte subakut ağrı olarak tanımlanır (10).

Kaynaklandığı bölgeye göre:

a. Somatik ağrı: Genellikle somatik sinir lifleri ile taşınan ağrıdır. Aniden başlayan ve keskin olup, iyi lokalize olan, batma, sızlama, zonklama tarzında olan ağrılardır.

b. Viseral ağrı: İç organlardan kaynaklanan, çoğunlukla künt tarzda olup, yavaş yavaş artan, kolay lokalize olmayan ve başka bölgelere doğru yayılan ağrılardır.

c. Sempatik ağrı: Sempatik sinir sisteminin aktive olmasıyla ortaya çıkan, yanma tarzında kendini belli eden ağrılardır (11).

2.1.3. Ağrı Algılanması ve İletimi

Ağrı algılanmasında 4 fizyolojik olay vardır:

1. Transdüksiyon: Bir uyarının (termal, mekanik veya kimyasal) nosiseptif duyuşal liflerin terminal ucunda elektrik aktiviteye dönüşmesidir.
2. Transmisyon: Periferal nosiseptörler tarafından aksiyon potansiyelinin santral sinir sistemine aksonlar boyunca iletilmesidir. Kondüksiyon, bir nörondan diğerine sinaptik yolla aktarılan bilgidir.
3. Modülasyon: Duyusal algının değiştirilmesidir (artırılması veya baskılanması).
4. Persepsiyon: İletilen ağrının bireyde sentez edilip çözümlenmesi ve yorumlanmasıdır (10).

2.1.4. Nosiseptörler

Çevresel termal, mekanik, kimyasal uyarıları algılayıp aksiyon potansiyeline dönüştüren reseptörlere nosiseptör adı verilir. Nosiseptörler sıklıkla kapsüle olmamış serbest sinir uçlarıdır. Doku hasarı için tehdit oluşturan veya doku hasarına yol açan uyarı ile aktive olurlar (12,13).

Miyelinli nosiseptörler nispeten hızlı iletimli A-delta lifleridir. A-delta liferi ilk (hızlı) keskin ağrıdan sorumludurlar (10,14). Miyelinsiz C lifleri ise periferik nosiseptörlerin büyük çoğunluğunu oluşturur. Çoğu C-polimodal nosiseptörler olarak sınıflanır ve termal, mekanik, kimyasal uyarıdan sorumludur. Bunlar yavaş iletimli

primer afferentlerdir. A-delta liflere göre uyarılabilirlik haline daha yavaş dönerler. C lifleri gecikmiş ve uzun süreli ağrıdan sorumludur.

Nosiseptif afferentler peptiderjik veya nonpeptiderjik olarak sınıflanırlar. Peptiderjik hücreler P maddesi ve/veya kalsitonin gen ilişkili peptid veya somatostatin, tirozin kinaz reseptör A ve/veya geçici reseptör potansiyeli vaniloid alt grubu-1 (transient receptor potential vanilloid subfamily, member 1/ TRPV1) sentez ederler ve dorsal boynuzun lamina I ve lamina II dış alanına projekte olurlar. Nonpeptiderjik hücreler ise dorsal boynuzun lamina II iç alanına projekte olurlar (10).

Nosiseptif nöronların hücre membranındaki sodyum kanal alt üniteleri, dorsal kök ganglionundan beyine giden sinir uyarılarını kontrol ederler. Sodyum kanallarının farklı protein izoformlarını kodlayan genler tanımlanmıştır (15). Bu genlerden bir tanesi, SCN9A, özgül sodyum kanalını (Na(v)1,7) kodlar. Bu, nosiseptif ve sempatik nöron ganglionlarında bulunur ve ağrı sinyalini düzenler (16).

2.1.5. Santral Sinir Sisteminde Ağrı İletimi

Nosiseptörlerden beyine giden spinal kordun dorsal boynuzundaki nöronların sinyal akışı, doğrudan monosinaptik ya da nöronlar arası temas ile oluşur. Bu eksitator veya inhibitör nitelikte olabilir (17).

Ağrı uyarıları dokulardan A delta miyelinli büyük çaplı ve C miyelinsiz ufak çaplı duyuşal sinir lifleri içinde omuriliğin arka boynuzunda substansia gelatinosa'daki ikinci nöronlara taşınır (18). Bu liflerin hücre kısmı yani birinci sıra ağrı nöronu omurilik arka köklerindeki spinal ganglionlarda bulunur. Substansia gelatinosa'da birinci nöron ucu ve ikinci nöronun başka ağrı ile ilgili olan üçüncü bir nöronal oluşum enkefalinerjik ara nöronlardır. Enkefalin pentapeptidler delta ve mü reseptörler aracılığı ile hem presinaptik inhibisyon hem postsinaptik inhibisyon yaparak birinci ağrı nöronundan ikinciye uyarı aşırımını baskı altında tutarlar.

Substansia gelatinosa'daki ikinci ağrı nöronu aksonları omurilik düzeyinde çapraz yaparak iki çıkıcı yolak oluşturur. Bunlar:

1. Spinotalamik yolak: Talamusun ventral posterolateral nükleusunda sonlanır.
2. Spinoretikülodiensefalik polisınaptik yolak: Beyin sapının alt kısmında medial retiküler formasyonda sonlanır.

İnici ağrı baskılama yolları (antinosiseptif retikülospinal sistem) ise supraspinal merkezlerden omurilik arka boynuzuna inen ve orada substansia gelatinosa'da birinci sıra ağrı nöronunun akson ucu ile ikinci sıra ağrı nöronu arasındaki sinapslarda ağrı aşırımı presinaptik ve postsinaptik etkileri ile inhibe eden yollarlardır. Bu yollar substansia gelatinosa'daki sinaptik etkilerini salıverdikleri serotonin ve noradrenalin gibi nöromedyatörlerle doğrudan yapabilecekleri gibi, oradaki kısa aksonlu enkefalinerjik ara nöronları aktive ederek dolaylı biçimde de yapabilirler. İnici ağrı yollarının en az üç bölümü vardır:

1. Periaquaduktal gri madde (PAG)'deki nöronlardan başlayıp raphe çekirdeğinde sinaps yapan yolak
2. Pons ve medulla oblongata'da retiküler formasyondan başlayan ikinci yolak
3. Locus coeruleus

Bu yerlerdeki reseptörlerin aktivasyonu ile oluşan analjezi supraspinal analjezi adını alır. Her üç inici yolak da substansia gelatinosa'daki enkefalinerjik ara nöronlarla sinaps yaparlar ve onları aktive ederler. Kısmen onlar aracılığı ile kısmen de doğrudan ağrı impulslarının spinal düzeydeki aşırımını baskırlar. Bu yollar ağrının giriş kapısındaki supraspinal kontrolünün anatomik temelini oluştururlar (19).

Medulla Spinalis Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi

Medulla spinalis, ağrı iletiminde ikinci durak olarak tanımlanır (20). Spinal kordun gri cevherinde 10 lamina tanımlamıştır (21). İlk altı lamina (I, II, III, IV, V, VI) dorsal boynuzu; VII, VIII, IX. laminalar ventral boynuzu oluştururken; lamina X ise spinal kordun santral kanalının çevresini saran nöronları içerir. Dorsal boynuzu oluşturan laminalar duyusal nöronları içerirler.

Lamina I (marjinal tabaka): Dorsal boynuzun yüzeye en yakın tabakasıdır. A delta ve C lifleri gibi küçük çaplı afferent liflerden ağırlı uyarıları alır ve anterolateral spinoalamik yolak aracılığıyla üst merkezlere iletir. Ağrı eşikleri yüksek olan nöronlardır.

Lamina II (substantia gelatinosa): Ağırlı uyarılara yanıt veren küçük ara nöronlar içermektedir. Substantia gelatinosa nöronları ağırlı uyarıların iletilmesinde

inhibitör etki yapmaktadır. Lamina II nöronları lamina I ve V'in hücrelerini modüle ederler.

Lamina III ve IV: Çoğunlukla zararsız stimuluslara hassas düşük eşikli nöronlardan oluşur. Ağrılı uyarılara karşı hassas değildir.

Lamina V: Buradaki nöronlar hem düşük eşikli mekanoseptörlerden hem de nosiseptörlerden uyarı alabilirler ve bu sebeple geniş dinamik alan nöronları olarak isimlendirilirler. Buradaki bir hücre en az iki bölgeden uyarı almaktadır. Ağrılı ve ağrısız uyarıların her ikisi de merkezdeki bölgede eksitator özellik gösterirken, çevresel bölgeye kalın liflerle gelen ağrısız uyarılar inhibitör özellik gösterir (22, 23).

Lamina VI: Genelde proprioseptif uyarıları ileten nöronlar bulunmaktadır. Spinal kord arka boynuzda yer alan nöronları görevlerine göre eksitator ara nöronlar, inhibitör ara nöronlar ve santral geçiş nöronları olarak gruplandırılabilir. İnhibitör ara nöronlar genellikle miyelinli A-beta grubu afferent liflerle uyarılır ve uyarının üst merkezlere iletilmesini inhibe ederler. Eksitator ara nöronlar A delta, C lifleri ile gelen uyarılarla aktive olurlar ve uyarının projeksiyon liflerine iletilmesini güçlendirirler. Projeksiyon lifleri ise uyarının üst merkezlere taşınmasıyla görevli olan nöronlardır (23-27).

Spinal korda ulaşan duyuşsal uyarıların küçük bir kısmı dorsal boynuz içinde aksiyon potansiyelleri oluşturarak talamusa taşınır. Talamus bu bilgiyi kortekse aktarır. Duyuşsal süreçler, spinal kordda bulunan lokal segmental halkalar, inen inhibitör ve beyinden çıkan fasilitör sinyaller yoluyla kontrol edilir (28).

2.2. İnflamasyon

2.2.1. Tanım ve Genel Özellikler

İnflamasyon "immünolojik veya immünolojik olmayan herhangi bir zedeleyici uyarana karşı vücudun fizyolojik, özgül olmayan bir savunma yanıtı" olarak tanımlanmaktadır. Amacı, nedeni ortadan kaldırmak veya etkisizleştirmek ve/veya doku onarımına yardımcı olmaktır. Bu yanıt zararlı uyarılar, infeksiyonlar, antikorlar veya fiziksel zedelenmeler ile başlatılabilir. İnflamatuvar bir yanıt

oluşturma yeteneği çevresel patojenler ve zedelenme ile karşılaşma durumunda yaşamda kalabilmek için gereklidir.

İnflamatuvar yanıt, mekanizmaları farklı olan 3 dönem ile belirgindir:

1. Yerel vazodilatasyon ve kapiller geçirgenlikte artma ile belirgin akut geçici dönem,
2. Daha çok lökositler ve fagositik hücrelerin infiltrasyonu ile belirgin gecikmiş subakut dönem,
3. Doku dejenerasyonu ve fibrözün görüldüğü kronik proliferatif dönem (2).

2.2.2. İnflamasyon Tipleri

Akut İnflamasyon: Sıcaklık, kızarıklık, şişlik, ağrı ve işlev kaybıyla belirgin olan ve tipik olarak 1-3 gün içinde sonlanan akut inflamasyonun nedenleri arasında kesme veya sıyrılma gibi mekanik travma, asit, alkali ve fenol gibi kimyasal ajanlar, ultraviyole veya X ışını, aşırı sıcak veya soğuk (yanık veya donuk), arteriyel beslenmenin azalmasına bağlı olarak alttaki dokunun ölümu, bakteri, virüs, parazit, kurt ve mantar gibi canlı mikroorganizmalar, uygunsuz veya aşırı etki yaratan immünolojik tepkiler bulunur (2).

Subakut İnflamasyon: 3-4 günden 1 aya dek sürebilen subakut inflamasyon, onarım döneminden önce gereken temizleme dönemi ile ilişkilidir (2).

Kronik İnflamasyon: Eğer subakut dönem 1 ay içinde çözülmezse inflamasyon kronik olmaya başlar ve aylarca sürebilir. Kronik inflamasyonun nedenleri arasında başlangıç uyaranının sürmesi veya normal iyileşme olayının engellenmesi ile yineleyen akut inflamasyon atakları bulunur (2).

Kronik inflamasyon ile birlikte olan hastalıklardan başlıcaları şunlardır:

1. Kardiyovasküler hastalıklar (ateroskleroz, serebrovasküler hastalık, kalp yetmezliği, kardiyomiyopati ve inme),
2. Nörolojik bozukluklar (Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, depresyon, demans ve multipl skleroz),
3. Kronik inflamatuvar hastalıklar (inflamatuvar bağırsak hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, romatoit artrit, psöriazis, kronik pankreatit, kronik

inflamatuvar demiyelinize edici polinöropati ve kronik inflamatuvar bağ dokusu hastalığı),

4. Kemik, kas ve iskelet hastalıkları (osteoporoz, osteopeni, osteoartrit, müsküler distrofi ve dejeneratif disk hastalığı),

5. Metabolik bozukluklar (yağlı karaciğer hastalığı, kalp hastalığı, tip 2 diyabet, kronik böbrek yetmezliği),

6. Kanser (akciğer/böbrek/mide/kolon/pankreas kanseri ve lenfoma),

7. Diyabetik komplikasyonlar (kardiyomiyopati, ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği, retinopati, sepsis ve nöropati).

2.3. İncretinler, Proglukagon, GLP-1 ve GLP-2

2.3.1. İncretinler

Enteral beslenmenin intravenöz beslenmeye göre daha fazla insülin sekresyonuna yol açtığı gözlenmesinden sonra incretin modeli ortaya çıkmıştır (29,30). İlk izole edilen incretin mide asidini inhibe ettiği için gastrik inhibitör polipeptid (GİP) olarak adlandırılmıştır (31). Daha sonra ise aslında GİP molekülünün insülotropik ve kan şekeri düzenleyici etkisinin daha güçlü ve gastrik inhibitör etkisinin daha zayıf olduğu anlaşılmıştır (32-36). Bu keşif sonrası molekülün ismi glukoz-bağımlı insülinotropik polipeptid olarak değiştirilmiştir (32-34). İlerleyen çalışmalar ile gastrointestinal sistemden (GİS) birden fazla incretin salgılandığı saptanmıştır (37,38).

İntestinal bölgeden salgılanan en önemli incretin ise GLP-1'dir. Bu peptid GİS'in jejunum ve distal ileumunda bulunan L-hücreleri tarafından sentez edilmektedir. Kendisini sentezleyen gen ile pankreasın α -hücrelerindeki glukagon geni aynıdır. Hatta transkripsiyon ve translasyon sonrası oluşan proglukagona kadar sentez yolları aynıdır (39). Fakat posttranslasyonel modifikasyonda pankreasın α -hücrelerinden glukagon, glisentin ilişkili pankreatik polipeptid ve majör prokoagülan fragmanı sentez edilirken, GİS'in L-hücrelerinden GLP-1, GLP-2 ve glisentin sentez edilmektedir. En potent incretin olan GLP-1 % 50 homoloji ile glukagona benzer (40-42). Gen paylaşımı ve moleküler homolojilerinden dolayı GLP ismi verilmiştir.

GIP, duodenum ve proksimal jejunumdaki K-hücrelerinden sentez edilen 42 aminoasitli polipeptiddir. Karbonhidrat, yağ ve protein alınımı ile sentez ve sekresyonu stimüle olmaktadır (43, 44).

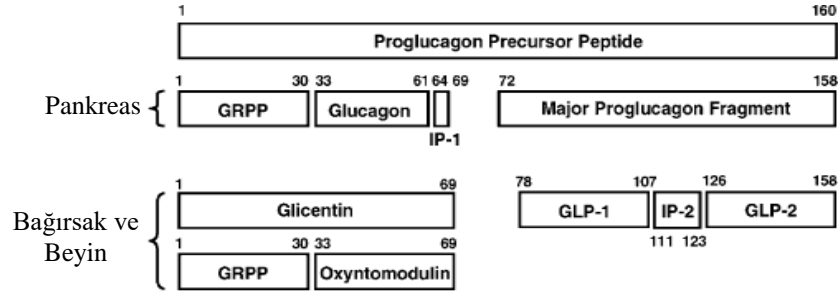
GLP-1, 30 aminoasit içeren, karbonhidrat, yağ ve daha az oranda da protein alımı ile sekresyonu artan bir maddedir. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimi ile dakikalar içerisinde yıkılmaktadır. GIP ve GLP-1 glukoza bağımlı akut insülinotropik etkilerini pankreasın β hücrelerinin yüzey reseptörlerine bağlanıp siklik adenozin monofosfat (cAMP) artışı ile göstermektedir. Uzun dönemde ise β hücrelerinin insülin sentezinde artış, hücre kitlesinde artışla birlikte olmaktadır. Diyabetik hastalarda yemekten sonraki dönemde inkretinlerle yükselmesi gereken total insülin cevabında belirgin bir azalma mevcuttur (45). Bu azalmanın sebebi, yemek ile uyarılan GLP-1 düzeylerinde diyabetik hastalarda gözlenen hafif fakat anlamlı düşüş ve GIP'in geç dönemde yükseltilememesidir (46, 47).

Tip 2 diyabetiklere devamlı GIP veya GLP-1 infüzyonu ile yapılan çalışmalarda glisemik kontrolün sağlandığı ve hemoglobin A1c'nin düştüğünün tespit edilmesi ile birlikte, bu moleküllerin uzun süreli uygulama ile tedavi araştırmaları başlamıştır (48).

Antidiyabetik tedavide GIP'e nazaran özellikle GLP-1 agonistleri üzerinde çalışılmıştır. Çünkü GLP-1, gastrik motiliteyi yavaşlatıp yemek sonrası ani glukoz piklerini engeller ve glukagonu baskılar. Bu nedenle GLP-1, GIP'e göre glukoz metabolizması üzerinde üstün fizyolojik etkilere sahiptir.

2.3.2. Proglukagon

GLP-1 ve GLP-2'nin prekürsörü olan proglukagon, 160 aminoasitlik bir peptittir. Pankreasta açlık anında glisentini-bağımlı pankreatik polipeptit (GRPP), glukagon, intervening peptid-1 (IP-1) ve ana proglukagon fragmanı olmak üzere parçalanır (Şekil 1). Tokluk anında ise primer olarak GLP-1 ve GLP-2'yi oluşturmakla beraber, ayrıca glisentini, GRPP, IP-2, oksintomodülin oluşturmak üzere kesilir. GLP-1 ve GLP-2'yi oluşturmak üzere prohormon dönüştürücü-1/3, bu prekürsörü C ucundan keser. Glukagon ise prohormon dönüştürücü-2 ile proglukagonun N ucundan kesilir (49-51).



Şekil 1. Proglukagonun translasyon sonrası ürünleri

Proglukagonun gen sentezi vücutta 3 yerde olmaktadır (49). Bunlar:

1. Pankreas adacıkları
2. Distal ileum ve kolonda enteroendokrin L hücreler
3. Beyinde nukleus traktus solitarius

2.3.3. GLP-1

GLP-1, ince ve kalın barsaktaki endokrin hücrelerden gıda alımına bağlı olarak salıverilen insülinotropik bir hormondur. GLP-1, mide boşalmasını ve gıda alımını inhibe ederek kan glukoz seviyelerinin kontrol edilmesine katkıda bulunur. GLP-1 benzeri bir peptid olan Gila kertenkelesi kaynaklı eksendin-4'ün kan glukoz seviyeleri üzerinde in vivo etkili olabildiği görülmüştür. Günümüzde tedaviye rağmen kan şekeri düzeyleri yüksek seyreden Tip 2 diyabetes mellitus (Tip 2 DM) olgularının tedavisinde Gila kertenkelesi tükrüğünden izole edilen eksendin-4 bileşiğinin bir sentetik türevi denenmektedir. Eksenatid (AC2993) adı verilen bileşiğin kan şekeri düzenlenmesine olumlu yöndeki katkılarına ilaveten kilo verdirici etkilerinin de bulunduğu ifade edilmektedir. Diyabetik deney hayvanı modellerinde oral, sublingual, pulmoner, trakeal ve nazal yolla yapılan uygulamalar sonrasında da AC2993'ün terapötik aktivite sergileyebildiği görülmüştür. Ajan halen Faz III deneme aşamasındadır (52,53).

GLP-1, barsakta enteroendokrin hücrelerden GLP-2 ile birlikte salıverilir (54). GLP-1 reseptörleri (GLP-1R) pankreas adacıkları, trakea-bronş epitelyal hücreler, beyin korteksi, hipokampus, dorsal kök ganglionları ve spinal dorsal boynuzda bulunur (55,56). GLP-1R agonistlerinin daha önce yapılmış olan çalışmalarda kronik ağrı, formalin bağımlı tonik ağrı, periferik nöropati ağrısı, kanser bağlı mekanik

allodini, diyabetik ağrı, carrageenan ve complete Freund's adjuvant (CFA) ile oluşturulan akut ve kronik ağrıda inflamasyon ve ağrıyı azaltıcı etkileri olduğu saptanmıştır (55-57). Ayrıca aktif fragman olan GLP-1 (7-36)'nın hafızayı ve akut nöroinflamasyona karşı hipokampüsteki sinaptik plastisiteyi koruduğu gözlenmiştir (58).

GLP-1'in biyolojik olarak aktif formları GLP-1-(7-37) ve GLP-1-(7.36)NH₂'dir. GLP-1 salıverilmesi ince bağırsak lümeninin karbonhidrat, protein ve lipid gibi sekretagolara teması ile başlar. Dolaşıma girdiğinde GLP-1'nin yarı ömrü 2 dakikadır ve hızlı bir şekilde DPP-4 tarafından parçalanır (59).

2.3.4. GLP-2

GLP-2, potent ve özgül bir GİS büyüme faktörüdür. 33 aminoasitten oluşan peptit yapısındadır. Yıkımı DPP-4 enzimi ile hızlıca olur, yarı ömrü birkaç dakika olarak belirtilmektedir (60). GLP-2 reseptörü (GLP-2R) enteroendokrin hücreler, subepitelyal miyofibroblast, submukozal ve miyenterik pleksustaki enterik nöronlarda yer alır. GLP-2R, 7 transmembranlı G protein ailesine dahildir (61).

GLP-2, başta yara iyileşmesi olmak üzere, santral sinir sisteminde, motor aktivitede, intestinal emilim ve mukozal inflamasyonda rol almaktadır. GLP-2'nin antidepresan etkileri olduğu, öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını (Alzheimer hastalığında) düzelttiği görülmektedir (50,62). Hücre çoğaltıcı/büyütücü etkisinden insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), epitelyal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), transforme edicibüyüme faktörü- β (TGF- β) ve keratinosit büyüme faktörü (KGF) sorumlu olduğu düşünülmektedir (63-65). İntestinal emilimi artırması yönüyle klinikte kısa barsak sendromlu hastalarda kullanılmaktadır. Bu etkiyi gastrointestinal hareketi azaltarak, intestinal villusları uzatarak, kriptleri derinleştirerek, gastrointestinal alanı büyütür, gıda geçişini yavaşlatarak yapmaktadır (66). Submukozal sinir ağındaki vazoaktif intestinal peptit (VIP) nöronlarının aktivasyonu ile intestinal inflamasyonu azalttığı, bu etkiyi tümör nekrozitan faktör (TNF α), interferon gamma (IFN γ) ve interlökin-1 (IL-1) düzeylerini azaltarak yaptığı bilinmektedir. Antagonisti olan GLP-2 (3-33) ise bu antiinflamatuvar etkiyi tersine çevirir (50).

GLP-2'nin beyin ventrikülleri içine uygulanım sonrası antidepresan etkiler oluşturduğu kanıtlanmıştır (61). GLP-2'nin beyinde aktivasyon yerleri hippokampus, korteks, dorsomedial hipotalamik nükleus, nukleus traktus solitarius'dur. Bu yerler majör depresyon, stres ve antidepresan tedavi cevabının alındığı beyin bölgeleridir. Antidepresan etkiyi beyin dokusunda 5-hidroksi triptamin (5-HT) seviyesini artırarak, serumda ise kortikosteron seviyesinin düşürerek; 5-HT_{1A}, α ₂ adrenerjik, β ₁ adrenerjik, D₂ antagonizma mekanizmaları yolu ile yapmaktadır (61).

GLP-2, glukagon/sekretin süperailisinin bir üyesidir. GLP-2R, glukagon ve GLP-1R'lere % 50 homoloji gösterir. Glukagon ve GLP-1R sinyal yolağı gibi, GLP-2R de G proteine bağlı reseptöre bağlanır. G proteine bağlı reseptörler kendilerine özgü genler ile kodlanırlar. G protein bağlı reseptörler hücre büyümesini uyarırlar. Yapısal olarak birbiriyle ilişkili olup ligand aktivasyonu sonucunda genellikle ortak sinyal mekanizmalarını kullanırlar. GLP-2'nin klinikte en sık kullanıldığı kısa bağırsak sendromu ile ilgili çalışmaların yanısıra intestinal epitelyum yüzeyini genişletmesi ve hücre çoğalmasıyla ilgili olarak yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (67,68).

Glukagon, GLP-1 ve GLP-2; cAMP ve aktivatör protein-1 (AP-1) bağımlı sinyal yolağını uyarır. AP-1 aktivasyonunun indüksiyonunda protein kinaz A (PKA)'dan bağımsız alternatif bir yolağın olduğu gösterilmiştir. GLP-2'nin uyardığı cAMP artışı, PKA ve AP-1 dışında ek diğer yolakların aktivasyonu ile hızlı sentezlenen öncül genlerin aktivasyonu ve hücre büyümesinde rol oynamaktadır. Glukagon, fosfolipaz C (PLC) aktivasyonuna bağlı inositol 1-4-5 trifosfat üretimi neticesinde hücre içi kalsiyum akışına bağlı olarak sinyal iletir. Aksine GLP-1R ve GLP-2R PLC uyarımı yapmazlar. GLP-2R'nin uyarımında glukagona ters olarak hücre içi serbest kalsiyum artışı görülmemektedir. Öte yandan, GLP-1'in hücre içi kalsiyum akışını artırdığı gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.

GLP-2, P70 S6 kinaz aktivasyonunu hızlı ve geçici şekilde artırır. Büyüme faktörleri ile P70 S6 kinaz aktivasyonu, serin/treonin kinaz Akt (protein kinaz B) aracılığıyla yapılmaktadır. Akt'nin ana hücre fonksiyonlarından biri apoptozisin önlenmesidir. GLP-2 bu yolakla epitelyal büyümeyi uyarır, apoptozisi inhibe eder (67).

Sonuç olarak GLP-2R aktivasyonunun temelinde; hücre içi cAMP seviyesinde artış, cAMP'nin uyardığı PKA bağımlı öncül genlerin (c-Fos, c-Jun, Jun-B) sentezlediği proteinlerin ekspresyonunda artış bulunmaktadır (68).

2.4. Serotonerjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü

Hücrelerde besin ile alınan bir aminoasit olan triptofanın önce 5 numaralı karbonundan hidroksillenmesi ve böylece oluşan 5-hidroksi triptofanın daha sonra dekarboksillenmesi ile iki basamakta sentez edilir. İlk olay serotonin sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı oluşturur ve triptofan hidroksilaz enzimi tarafından katalize edilir. İkinci basamak vücutta yaygın olarak bulunan aromatik L-aminoasit dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) enzimi tarafından katalize edilir. Serotonin hücrelerde mitokondriyel monoamin oksidaz (MAO) A ve B tarafından oksidatif deaminasyon suretiyle yıkılır (69).

Serotonin, nosiseptif uyarıyı sinir sisteminin çeşitli seviyelerinde düzenler. Mezensefalonda periakvaduktal gri maddenin veya medulla oblongatada raphe çekirdeklerinin elektriksel uyarımı, inisi serotonerjik bulbospinal yolak ve kısmen de noradrenerjik yolak aracılığı ile omurilik arka boynuzu düzeyinde sinaptik inhibisyon yaparak ağrı yolağını ve nosiseptif refleksleri inhibe eder ve analjezik etki oluşturur. Omurilik düzeyinde salıverilen serotoninin bu analjezik etkisine 5-HT_{1B/D} ve 5-HT₃ reseptörler aracılık eder. Ancak serotoninin omurilik düzeyinde bir anti-analjezik etkisi de vardır; bu, 5-HT_{1A} reseptörler aracılığı ile nosiseptif reflekslerin uyarılmasına bağlıdır (70).

Periferde primer afferentler sinir uçlarına uygulandığı zaman, serotonin aljezik özellik gösterir ve olasılıkla bradikinin gibi ağrıya yol açan maddelerin etkilerini potansiyalize eder. Hücresel düzeyde bu potansiyalizasyonun mekanizması tam anlaşılammış olmasına rağmen, bu potansiyalizasyon ve tek başına serotoninin aljezik etkisinin 5-HT₃ reseptör üzerinden olduğu düşünülmektedir (71). Serotoninin periferik sinir sistemi ile ilgili en önemli etkisi, primer afferent sinir uçlarını 5-HT₃ reseptörleri aracılığı ile uyarmasıdır. Ciltte, üstü yırtılmış vezikül tabanına serotonin solusyonu sürülmesi o yerde şiddetli ağrı duyumsanmasına neden olur (69).

2.5. Nitrerjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki asetilkolin etkisi altında tavşan aortası endotelyumunun uyarılması sonucu kan damarlarını gevşeten çok labil bir faktörün varlığını gösterdiler. İlk olarak endotelyum kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılan bu maddeye daha sonra nitrik oksid (NO) denildi (72).

NO, bir azot atomu ve bir oksijen atomunun kombinasyonundan meydana gelen eşleşmemiş bir elektronu olan serbest radikal bir gazdır. Endotel hücrelerinde L-arginin'in NO sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-sitrülin'e dönüşümü sırasında açığa çıkar (73). NO lipit ortamda iyi, sulu çözeltilerde kısmen çözülür. Böylelikle hücre çevresine kolaylıkla yayılır. NO'nun fizyolojik yarılanma ömrü 3-5 saniye arasındadır. Biyolojik sistemlerde NO'nun yarı ömrü, dokuların taşıdığı oksijenli bileşiklerin oranındaki farklılıklardan dolayı büyük değişkenlik göstermektedir.

NOS'un 3 farklı biçimi belirlenmiştir:

1. Yapısal NOS (eNOS), endotel hücreleri içinde bulunur, reseptör aracılığı ile hücre içi kalsiyum artışı bu enzimin kısa süreli NO sentezlemesine neden olur.
2. Nöronal NOS (nNOS), kalsiyuma bağımlı bir biçimde sinir hücrelerinde NO sentezinden sorumludur.
3. İndüklenebilir NOS (iNOS), makrofajlarda bulunur. Lipopolisakkarit (LPS) ve sitokinler tarafından uyarılır. iNOS hücre içinde ortaya çıkınca uzun süre NO sentezler. Kalsiyumdan bağımsız bu NOS biçimi sözü edilen NO'in toksik etkilerinden sorumludur (74). Glukortikoidler tarafından inhibe edilebilir.

NO biyolojik zarlardan kolaylıkla geçerek hedef moleküllere kovalent bağla bağlanır. NO, sentez edildikçe salıverilen bir molekül olup yapısı gereği depolanmaya uygun değildir. Fazla miktarda oluşumu dokulara toksik etkiler yapabileceği için hızla etkisiz hale dönüştürülür (75).

NO, fizyolojik etkilerini büyük ölçüde çözünebilir guanilat siklaz aktivasyonu yoluyla, sentezini artırdığı siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden göstermektedir. NO'nun etkilerinin çoğundan sorumlu olan cGMP, temelde aktive ettiği protein kinaz G (PKG) aracılığıyla etkinlik göstermektedir. PKG, bir

serin/treonin kinaz olup, hücrenin işlevsel proteinlerini (kanal, reseptör, taşıyıcı, pompa, enzim proteinleri gibi) fosforile ederek hedef molekülün çalışmasını tetiklemekte veya engellemektedir. Böylece, protein kinazlarla gerçekleştirilen fosforilasyon ve ardından protein fosfatazlarla oluşan defosforilasyon hedef moleküller ya da genel anlamda hücre işlevleri için açma-kapama düğmesi gibi çalışmaktadır (73).

NO'nun etkilerini başlıca 3 mekanizma ile gerçekleştirdiği anlaşılmıştır:

1. Metal çekirdeklere bağlanma: NO'nun çözünebilir guanilat siklazın demirine bağlanarak enzimi aktive etmesi ya da sitokrom C'nin bakırına bağlanarak enzimi inhibe etmesi buna örnektir.

2. Nitrozilasyon: NO, sisteinleri nitrozilleyerek organizmada yaklaşık 100 kadar proteinin işlevini etkileyebilmektedir. Glutasyon, albümin, hemoglobin, miyoglobin, ryanodin reseptörü 2, L-tipi kalsiyum kanalları, sarkoendoplazmik retikulum Ca-ATPaz 2a (SERCA2a), kaspazlar, nükleer faktör kappa B (NF-κB), hipoksiyle indüklenen faktör 1 (HIF1), kreatin kinaz, gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH), aldehit dehidrojenaz, mitekondrial kompleks 1 ve 4, östrojen reseptörleri, eNOS, siklooksijenaz-2 (COX-2), ısı şok proteini 90 (Hsp 90) bunlardan bazılarıdır.

3. Nitrasyon ve oksidasyon: Bu durum NO ile birlikte aşırı süperoksit radikali üretiminin olduğu durumlarda oluşmaktadır. Oksidatif stres yerine nitrozatif stres söz konusudur. NO ve süperoksit radikali etkileşimi sonucu peroksinitrit radikali oluşumu yanında başka serbest radikaller de çıkmaktadır (73).

Yapılan çalışmalarda NO'nun nosiseptif yollarla ilişkili olduğu, NO sentez inhibisyonunun akut ve kronik nöropatik ağrı modellerinde iyileştirici olduğu belirtilmektedir (76). NO'nun periferik yoldan uygulanan morfinin analjezik etkisindeki olası rolünün incelendiği bir çalışmada, NOS inhibitörü N-nitro- L-arjininin (L-NA) uygulanması sonucu NO sentezinin azalmasının, periferik yoldan uygulanmış olan morfinin analjezik etkisini artırdığı gösterilmiştir (77). NO'nun ağrı ile ilgili olaylarda periferde etkisi araştırıldığında nosiseptif ve antinosiseptif olmak üzere ikili rolü olduğu belirtilmektedir (78).

2.6. Opioiderjik Yolağın Ağrı ve İnflamasyondaki Rolü

Santral sinir sisteminde (SSS) bazı alanların elektriksel uyarılmaları sonucu analjezi oluşması ve özellikle bunun opioid antagonistleri ile önlenebilmesi opioid nöromedyatörlerin varlığı ile açıklanmıştır. Dört opioid peptit grubu bulunmaktadır:

1. Proopiomelanokortin (POMK) sistemi: Hipofiz ön lobunda POMK'tan, önce adrenokortikotropik hormon (ACTH) ile birlikte β -lipotropin oluşur; sonra, sonuncu maddeden β -endorfin oluşur. β -endorfin mü reseptörlere yüksek afinite gösterir ve ön hipofizdeki kortikotrof hücrelerden ACTH ile birlikte salıverilir. Stres yapan durumlarda salıverilmesi artar. β -endorfin beyin ventriküleri içine injekte edildiğinde güçlü analjezi yapar. Nalokson ile antagonize edilir.

2. Proenkefalin sistemi: Proenkefalin A'nın parçalanması sonucu met-enkefalin, lö-enkefalin, peptit E ve bovin adrenal medulla peptitleri (BAMP) oluşur. En çok adrenal medullada bulunurlar. Adrenal medulladan stres durumunda salıverilen enkefalinlerin, ön hipofizden salıverilen β -endorfin ile birlikte stres analjezinin oluşmasında rol oynadıkları deney hayvanlarında saptanmıştır. Enkefalinler opioiderjik delta ve mü 1 reseptörlere yüksek afinite gösterir.

3. Prodinorfin sistemi: Bu prekürsörden dinorfin A, dinorfin B, α -neoendorfin ve β -neoendorfin oluşur. Opioiderjik kappa reseptörlerine yüksek afinite gösterirler.

4. Nosisseptin/Orfanin FQ sistemi: Diğer opioid peptitlerden farklı olarak deney hayvanlarında hayvanın davranışsal durumuna göre ağrı eşiğini düşürürler ve böylece anti-analjezik etki yaparlar (79).

Opioid reseptörleri: Halen bilinen opioid reseptörlerinin hepsi G protein kenetli 7 transmembranal segmentli reseptörlerdir. Ana reseptörler; mü (OP3), delta (OP1), kappa (OP2), nosisseptin/orfanin FQ reseptörleridir. Bu reseptör türleri üzerinde nalokson antagonistik etkinlik gösterir. Ancak bu reseptörlerin naloksona afinitesi farklıdır. Şöyle ki, bu reseptörler nalokson tarafından mü > delta > kappa duyarlılık sırasına göre antagonize edilirler (79).

Opioid peptitlerin farmakolojik etkileri morfin ve benzeri ilaçlarınkine yakından benzer. Deney hayvanlarına uzun süre nalokson verilmesiyle beyindeki opioid reseptör sayısı artar ve agonistlere aşırı duyarlılık gelişir. Agonist ilaçlarla uzun süren tedavi ise opioid reseptörlerinde duyarsızlık oluşturur (80).

Farmakolojik etkilerinin ve diğer özelliklerinin benzerliği, opioid ilaçlarla opioid endojen peptitlerin aynı reseptörleri etkilemek suretiyle etki oluşturdukları görüşünü destekler. Diğer bir alternatif, ilaçların kısmen sinir uçlarından endojen peptit salıvermek suretiyle kendilerine özgü etkilerini indirekt olarak oluşturmalarıdır. Farelerde morfine bağlı analjezik etkinin opioid peptit salıverilmesi suretiyle oluşabileceğini gösteren bulgular elde edilmiş olmakla birlikte, bu tür bir etkinin mekanizması tartışmalı durumdadır (80).

Nöronlarda yapılmış elektrofizyolojik incelemeler, opioid peptitlerin ve morfin ve türevlerinin nöronlarda hiperpolarizasyon ve inhibitör etki yaptığını göstermiştir. Öte yandan bu peptitlerin beyinde belirli nöron topluluklarını veya merkezleri stimüle ettikleri bilinmektedir.

Söz konusu peptit ve ilaçların nöron düzeyindeki inhibitör etkilerine aracılık eden üç transmembranal transdükleme mekanizmasının varlığı gösterilmiştir:

1. Adenilil siklazın inhibisyonu: Opioid reseptörlerin her üç alt tipi de G_i ve G_o proteinleri aracılığı ile adenilat siklaza negatif şekilde kenetlenir. Birçok nöron türündeki etki cAMP'nin azalması ile ilişkilidir.

2. Nöron membranındaki voltaja bağlı kalsiyum kanallarından hücreye Ca girişinin azaltılması: Bu etki sonucu akson uçlarında veya nöron gövdelerinde hücre içi Ca düzeyinin düşmesi, sözkonusu maddelerin presinaptik ve postsinaptik inhibitör etkilerine katkıda bulunur. Bu tür transdüksiyon mü reseptörleri için gösterilmiştir. Kalsiyum kanalları üzerindeki etkiye mü reseptörler tarafından aktive edilen G_i proteinleri aracılık eder. Nöron içi Ca düzeyinin deneysel olarak yükseltilmesi opioid ilaçların etkisini antagonize eder.

3. G_i proteini aracılığı ile nöron membranındaki K^+ kanallarının açılması (K^+ geçirgenliğinin artırılması): Mü ve delta reseptörlerin aktivasyonu, nöronlarda bu olay sonucu hiperpolarizasyon (inhibisyon) yapar (80).

Opioidlerin analjezik etkilerini spinal kord arka boynuzundaki nosiseptif bilginin yukarı çıkan iletimini doğrudan önleyerek ve spinal kord arka boynuzuna rostral ventromediyal medulla yoluyla orta beyinden inen devrelerinde ağrı kontrolünü aktive ederek sağladıkları bilinmektedir. Opioid peptidler ve reseptörleri bu inen ağrı kontrol devreleri boyunca bulunur (81). Mü opioid reseptörle mesajcı RNA (mRNA) ve/veya ligand bağlanma yerleri PAG, ponsta retiküler formasyon, median raphe,

nükleus raphe magnus ve komşu rostral ventromedial medullada ve spinal kordda bulunur (82,83).

Mü opioid reseptörlerinde olduğu gibi arka boynuzda belirgin sayıda delta opioid reseptör bağlama alanı bulunur ancak hiç mRNA ekspresyonu olmaması spinal analjezide delta opioid reseptörünün presinaptik etkisinin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. Kappa opioid reseptör mRNA ve ligand bağları PAG, pons retiküler formasyon, median raphe boyunca geniş yayılım gösterir. Bu farklılaşmış yerleşim özellikleri ağrı düzenlenmesinde fonksiyonel farklılıklara yol açabilir (82).

Biz çalışmamızda; GLP-1 ve GLP-2'nin, akut ve kronik uygulama sonrası farelerde deneysel ağrı ve inflamasyon modelleri üzerindeki etkilerini ve bu etkilerin mekanizmalarını araştırmayı planladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi (K.T.Ü.) Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yapılmış olup K.T.Ü. hayvan deneyleri yerel etik kurulundan onay alındıktan sonra başlanmıştır (Etik Kurul Dosya No: 2015/44, Onay tarihi: 15/12/2015).

Çalışmada her iki cinsten ağırlıkları 20-40 g olan Balb/c cinsi fareler randomize olarak seçilmiştir. Fareler deneye başlamadan bir gün önce laboratuvar ortamına getirilerek alışmaları sağlanmıştır. Hayvanlar 22°C sıcaklık ve % 60±5 nem kontrollü ortamda 12 saat aydınlık-12 saat karanlıkta tutulmuştur. Deneyler gün içi varyasyonu en aza indirmek için aynı saatlerde (9.00-17.00 arasında) yapılmıştır. Çalışmada ağrıyı değerlendirme yöntemi olarak hot plate (sıcak tabaka) testi; inflamasyon oluşturmak için formalin testi; pençe çapını ölçmek için kumpas kullanılmıştır.

Çalışma 3 aşamada planlanmıştır:

1. GLP-1 ve GLP-2'nin nosisepsiyon ve inflamasyona olan etkilerinin akut ve kronik uygulamada hot plate ve formalin testlerinde değerlendirilmesi.
2. GLP-1 ve GLP-2'nin serotonerjik, nitreerjik ve opioiderjik yollar üzerine olan etki mekanizmalarının araştırılması.
3. Lökomotor aktivite ve kan şekeri düzeyinin bu etkilere katkısı olup olmadığını gözlemlemek için rotarod testi ve kan şekeri ölçüm kontrolleri yapılması.

3.1. Davranış Testleri

3.1.1. Termal Uyarı ile Oluşturulan Ağrı Modeli (Hot Plate Testi)

Hot plate testi, ilk kez Woolfe ve MacDonald tarafından 1944'de tanımlanmış olmasına rağmen, en çok 1953'de Eddy ve Leimbach tarafından tanımlanan geliştirilmiş formu şeklinde kullanılmaktadır. Hot plate testi kemirgenlerin ağrı eşiğinin değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntemlerdendir (Şekil 2).



Şekil 2. Hot plate deney düzeneği

Temel olarak 50-56°C'ye ısıtılmış bir yüzeyden (bakır veya alüminyum) oluşur. Hayvanın ısıtılan yüzey üzerinde belli bölge sınırlarında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte cam veya pleksiglas silindirler kullanılır. Yüzeye farenin bırakılmasından hayvanın arka ayağını çekmesi, yalaması, sıçramasına kadar geçen süre ölçülür. Doku hasarına sebep olacağı için sona erdirme süresi (cut-off) 30 saniyedir. Hot plate testi spinal ve supraspinal düzeyde ağrının değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir (84).

Çalışmamızda farelerin hot plate testinde arka pençelerini yaladıkları sürenin ölçümü yapıldı. Doku zedelenmesini önlemek için deneyi sonlandırma süresi (cut-off) 30 sn olarak belirlendi. Antinosisepatif etkinin göstergesi olarak değerlendirilecek olan maksimum olası etkinin yüzdesi (% MPE /maximum possible effect) şu formüle göre hesaplandı:

$$\% \text{ MPE} = \frac{(\text{ilaç verildikten sonraki süre} - \text{ilaç verilmeden önceki süre})}{(\text{cut-off süresi} - \text{ilaç verilmeden önceki süre})} \times 100$$

3.1.2. Kimyasal Uyarı ile Oluşturulan İnflamasyon Modeli (Formalin Testi)

Formalin testi, 1977'de Dubuisson ve Dennis tarafından kedi ve sıçanlar için geliştirilmiş, daha sonra farelere de uyarlanmıştır. En çok kullanılan kimyasal uyarandır. Formalin solüsyonu intraplantar olarak arka ayağın dorsal veya ventral

yüzeyine injekte edilir. İnflamasyon oluşturmak için carrageenin, serotonin, kaolin, platelet aktive edici faktör ve hardal yağı gibi maddelerde aynı biçimde kullanılabilir.

İnjesiyonu izleyen temel davranış hayvanın ayağını yalaması ve/veya ısırmasıdır. Formalin yanıtı iki aşamalıdır. Erken/akut faz, injeksiyondan hemen sonra başlar ve 5-10 dakika sürer. Geç/tonik faz ise injeksiyondan yaklaşık 15 dakika sonra başlar ve 1 saat kadar sürer. Erken fazda nosiseptörlerin kimyasalla direkt uyarılması sözkonusudur, geç faza inflamasyon da eşlik eder. İki faz arasında kalan süre ise spinal ve supraspinal düzeyde aktif inhibisyona bağlı olarak gerçekleştiği kabul edilen fazdır. Pek çok sayıda araştırmanın konusu bu iki faz arasındaki anatomik, nörokimyasal ve farmakolojik farktır. Bu modelin en büyük özelliği iki farklı tipte uyarının aynı çalışma içerisinde değerlendirilmesine imkan sağlamasıdır (84).

Çalışmamızda %10'luk formalin 30 µl hacimde intraplantar yolla farelerin sol arka pençelerine enjekte edildi.

3.1.3. Pençe Ölçümleri

Kumpas aracılığıyla ölçüm: İnflamasyon testlerinde kullanılan, pençenin ödem miktarını pençe çapının kalınlığını ölçmek suretiyle milimetre (mm) biriminde veren güvenilir bir yöntemdir (Şekil 3). Çalışmamızda formalin testinde ilaç verilen pençenin (sol pençe) ilaç öncesi ve sonrası olmak üzere pençe çapı ölçümleri ile diğer pençenin (sağ pençe) kontrol çap ölçümleri için kumpas kullanıldı.



Şekil 3. Pençe çapı ölçüm aleti (Kumpas)

3.1.4. Rotarod Testi ve Kan Şekeri Ölçümü

Rotarod testi, nörodejeneratif hastalık modellerinde ve motor bozuklukların değerlendirilmesinde sıkça kullanılan bir testtir. Bu testte, hayvanların dönen mil üzerinde sınırlı bir sürede düşmeden dengede kalmaları gerekmektedir. Performans, hayvanların mil üzerinde kalma sürelerinin ölçümüdür. Bu sürenin uzunluğu, özellikle ön ve arka ayak motor koordinasyonunun ve dengenin göstergesidir. Test, sürme süresi (saniye) veya dayanıklılık gibi parametreleri ölçer. Testin bazı işlevleri, denge, kavrama gücü ve özellikle tedavi sonrası ilaç etkinliğini karşılaştırmada motor koordinasyonu değerlendirmeyi içerir.

Çalışmamızda rotaroda alıştırma protokolü olarak deneylerimizden bir gün önce bütün fareler, rotarod cihazında 240 sn (kesme zamanı) süresince 30'ar dakika ara ile üçer kez çalıştırılarak cihaza alışmaları ve stabil performans seviyelerine ulaşmaları sağlandı. Alıştırma periyodunu takip eden deney gününde, ilaç uygulamadan önce fareler sabit hızlı (10 rpm) rotaroda yerleştirildi ve 240 sn'lik kesme zamanına kadar rotaroddan düşme süreleri kaydedildi. Süreyi dolduran veya dolduramadan düşen farelerin kuyruk distalinden kan şekeri ölçümleri glukometre cihazıyla yapıldı. Hemen sonrasında intraperitoneal ilaç uygulandı. 30 dakika sonra fareler ikinci kez sabit hızlı (10 rpm) rotaroda yerleştirildi ve 240 sn'lik kesme zamanına kadar rotaroddan düşme süreleri kaydedildi. Süreyi dolduran veya dolduramadan düşen farelerin kuyruk distalinden kan şekeri ölçümleri ikinci kez yapıldı.

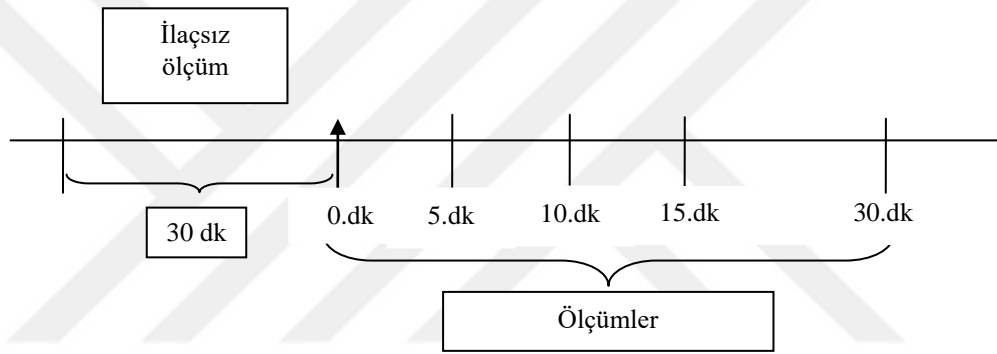
3.2. Çalışma Protokolü

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) dozlarında hazırlanarak farelere intraperitoneal (i.p) yolla uygulandı. Antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkiler sırasıyla hot plate ve formalin testinde çalışıldı. Lökomotor aktivite ve kan şekeri düzeyinin bu etkilere katkısı olup olmadığını gözlemlemek için rotarod testi ve kan şekeri düzeyi ölçümleri yapıldı. GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkisinin görüldüğü minimum

dozları belirlenerek, antagonizma çalışmalarında ve kronik deneysel çalışmada uygulandı. 14. günün sonunda farelere hot plate ve formalin testi yapıldı.

3.2.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Hot Plate Testinde Antinositif Etkisinin Araştırılması

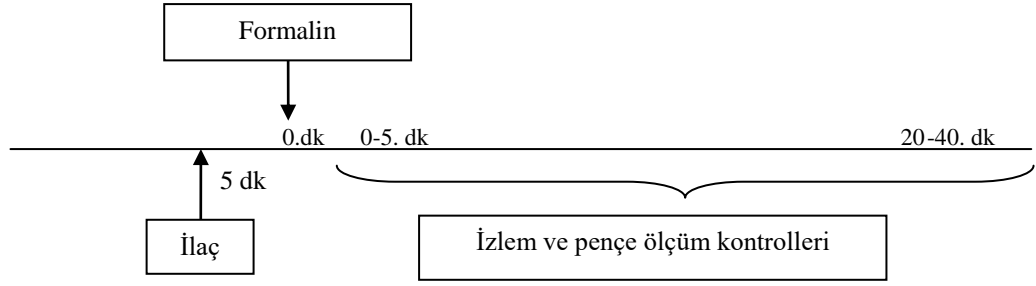
Çalışmamızda öncelikle farelere ilaç verilmeden hot plate testi uygulandı. 30 dakika sonra ilaç olarak GLP-1 (0.05- 0.1- 0.2 mg/kg dozlarında), GLP-2 (0.05- 0.1- 0.2 mg/kg dozlarında) veya kontrol olarak salin (ilaçlara eşit hacimde) i.p yolla verildi. Sonrasında 5., 10., 15., 30. dakikada hot plate testi yapıldı (Şekil 4).



Şekil 4. Hot plate testi protokolü

3.2.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Formalin Testinde Antiinflatuar Etkisinin Araştırılması

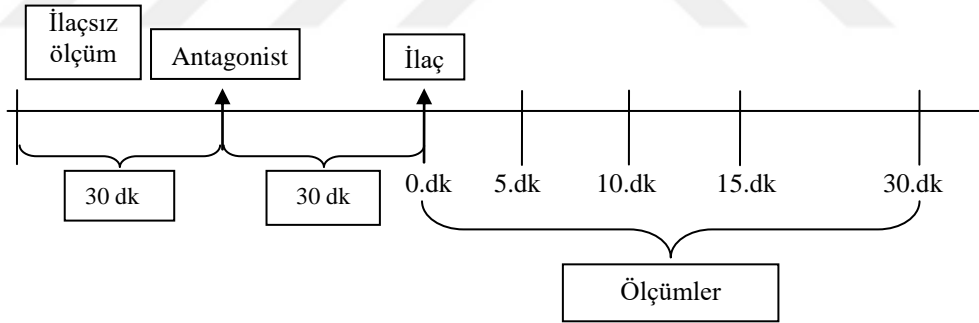
Çalışmamızda öncelikle farelerin kumpasla sağ ve sol olmak üzere pençe çapları ölçüldü. İlaç olarak GLP-1 (0.05- 0.1- 0.2 mg/kg dozlarında), GLP-2 (0.05- 0.1- 0.2 mg/kg dozlarında) veya kontrol olarak salin (ilaçlara eşit hacimde) i.p yolla verildi. İlaçtan 5 dakika sonra sol pençeye %10'luk formalin 30 µl intraplantar yolla uygulandı. Fareler 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında izleme alındı. Bu sürelerde farelerin formalin uygulanmış olan pençelerini yalama (licking/biting) ve sallama (flinching/ shaking) sayıları kaydedildi (Şekil 5).



Şekil 5. Formalin testi protokolü

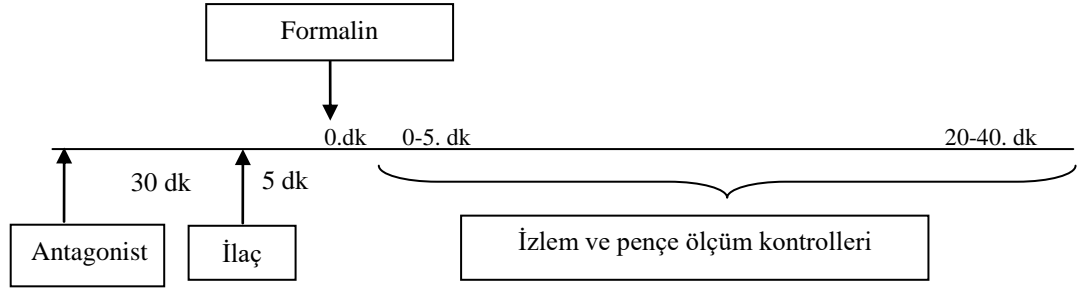
3.2.3. GLP-1 ve GLP-2'nin Antinosiseptif ve Antiinflamatuvar Etki Mekanizmasının Antagonistlerle Çalışılması Protokolü

Çalışmamızda antagonistler (ondansetron 0.1 mg/kg, L-NAME 10 mg/kg, nalokson 5 mg/kg) hot plate testinde ilaçsız ölçüm yapıldıktan 30 dakika sonra verildi. Bu antagonistlerden 30 dakika sonra GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif etkisinin ön çalışmalarda belirlendiği minimum dozları i.p yolla verildi. İlaç verildikten 5, 10, 15, 30 dakika sonra hot plate testi yapıldı (Şekil 6).



Şekil 6. Hot plate testinde GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif etkilerinin mekanizmalarının araştırılmasında uygulanan protokol

Çalışmamızda antagonistlerden (ondansetron 0.1 mg/kg, L-NAME 10 mg/kg, nalokson 5 mg/kg), 30 dakika sonra GLP-1 ve GLP-2'nin antiinflamatuvar etkisinin minimum dozları i.p yolla verildi. Farelerin sağ ve sol pençelerinin çapları kumpasla ölçüldü. İlaçtan 5 dakika sonra sol pençeye % 10'luk formalin 30 µl s.c verildi. Fareler 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında izleme alındı. Bu sürelerde farelerin formalin uygulanmış olan pençelerini yalama (licking/biting) ve sallama (flinching/ shaking) sayıları kaydedildi (Şekil 7).



Şekil 7. Formalin testinde GLP-1 ve GLP-2'nin antiinflamatuvar etkilerinin mekanizmalarının araştırılmasında uygulanan protokol

3.3. Deney Grupları

- **GLP-1 ve GLP-2'nin Akut Uygulama Sonrasındaki Etkilerini İncelediğimiz Gruplar**

7 deney grubu oluşturuldu:

Grup 1 (GLP-1 0.05 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-1 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 2 (GLP-1 0.1 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-1 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 3 (GLP-1 0.2 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-1 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 4 (GLP-2 0.05 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-2 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 5 (GLP-2 0.1 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-2 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 6 (GLP-2 0.2 mg/kg) (n=12): Hayvanlara GLP-2 i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 7 (Kontrol grubu) (n=12): Hayvanlara verilecek ilaca uygun hacimde salin, i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

- **GLP-1 ve GLP-2'nin Etki Mekanizmalarını Antagonistler Kullanarak İncelediğimiz Gruplar**

Serotonerjik Yolak

Bu gruplarda, GLP-1 ve GLP-2'nin serotonerjik yolak ile ilişkisi incelenmek üzere 5-HT₃ reseptör blokörü olan ondansetron kullanılmıştır.

Grup 1 (ondansetron 0.1 mg/kg + GLP-1 minimum etkin dozu, n=12): Hayvanlara i.p olarak 0,1 mg/kg ondansetron verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-1'in minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 2 (ondansetron 0.1 mg/kg + GLP-2 minimum etkin dozu, n=12): Hayvanlara i.p olarak 0,1 mg/kg ondansetron verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-2'nin minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 3 (ondansetron 0.1 mg/kg + salin) (n=12): Hayvanlara i.p olarak 0,1 mg/kg ondansetron verildi, ardından 30 dakika sonra salin i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Nitrerjik Yolak

Bu gruplarda, GLP-1 ve GLP-2'nin nitrerjik yolak ile ilişkisi incelenmek üzere NOS inhibitörü olan L-NAME kullanılmıştır.

Grup 1 (L-NAME 10 mg/kg + GLP-1 minimum etkin dozu) (n=12): Hayvanlara i.p olarak 10 mg/kg L-NAME verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-1'in minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 2 (L-NAME 10 mg/kg + GLP-2 minimum etkin dozu) (n=12): Hayvanlara i.p olarak 10 mg/kg L-NAME verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-2'nin minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 3 (L-NAME 10 mg/kg + salin) (n=12): Hayvanlara i.p olarak 10 mg/kg L-NAME verildi, ardından 30 dakika sonra salin i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Opioiderjik Yolak

Bu gruplarda, GLP-1 ve GLP-2'nin opioiderjik yolak ile ilişkisi incelenmek üzere opioid mü, delta, kappa reseptör antagonisti olan nalokson kullanılmıştır.

Grup 1 (Nalokson 5 mg/kg + GLP-1 minimum etkin dozu) (n=12): Hayvanlara i.p olarak nalokson 5 mg/kg verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-1'in minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 2 (Nalokson 5 mg/kg + GLP-2 minimum etkin dozu) (n=12): Hayvanlara i.p olarak nalokson 5 mg/kg verildi, ardından 30 dakika sonra GLP-2'nin minimum etkin dozu i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 3 (Nalokson 5 mg/kg + salin) (n=12): Hayvanlara i.p olarak nalokson 5 mg/kg verildi, ardından 30 dakika sonra salin i.p uygulandı. Antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler etkiler sırasıyla hot plate testi ve formalin testinde araştırıldı.

- **GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasındaki Etkilerini İncelediğimiz Gruplar**

3 grup oluşturuldu:

Grup 1 (GLP-1 minimum etkin dozu, n=12): Hayvanlara 14 gün boyunca GLP-1 minimum etkin dozda i.p uygulandı. 14 günün sonunda antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 2 (GLP-2 minimum etkin dozu, n=12): Hayvanlara 14 gün boyunca GLP-2 minimum etkin dozda i.p uygulandı. 14 günün sonunda antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate ve formalin testinde araştırıldı.

Grup 3 (Salin) (n=12): Hayvanlara 14 gün boyunca salin i.p uygulandı. 14 günün sonunda antinosiseptif (n=6) ve antiinflamatuvar (n=6) etkiler sırasıyla hot plate ve formalin testinde araştırıldı.

3.4. GLP-1 ve GLP-2'nin Lökomotor Aktivite ve Kan Şekeri Düzeyine Olan Etkilerinin İncelenmesi

GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinde bu ajanların lökomotor aktivitelerini ve kan şekeri modülasyonuna olan olası etkilerini incelemek için 3 grup oluşturuldu:

Grup 1 (GLP-1 minimum etkin dozu, n=6): Hayvanlara önce rotarod testi uygulandı. Egzersiz sonrası kan şekeri ölçümü yapıldı. 30 dakika sonra ilaç uygulandı. Sonra tekrar rotarod yapıldı ve kan şekeri ölçüldü.

Grup 2 (GLP-2 minimum etkin dozu, n=6): Hayvanlara önce rotarod testi uygulandı. Egzersiz sonrası kan şekeri ölçümü yapıldı. 30 dakika sonra ilaç uygulandı. Sonra tekrar rotarod yapıldı ve kan şekeri ölçüldü.

Grup 3 (Salin) (n=6): Hayvanlara önce rotarod testi uygulandı. Egzersiz sonrası kan şekeri ölçümü yapıldı. 30 dakika sonra salin uygulandı. Sonra tekrar rotarod yapıldı ve kan şekeri ölçüldü.

3.5. İlaçların Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan maddeler:

- Glucagon-Like Peptide 1 Fragment 7-37 human 0.5 mg (Sigma-Aldrich)
- GLP-2 1-33 rat/ Preproglucagon 126-158 / Glp 2 rat 1 mg (Sigma-Aldrich)
- Ondansetron HCl (Ondaren 4 mg/ 2 ml ampul müstahzar- Vem İlaç)
- L-NAME HCl (Sigma-Aldrich)
- Nalokson HCl (Sigma-Aldrich)
- Formalin

GLP-1 ve GLP-2 salinde homojen bir şekilde çözüldü. 0.05, 0.1, 0.2 mg/kg oranındaki ilaçların dozları hesaplanarak farelere intraperitoneal yolla verildi. Stok tüpler -20⁰C derin dondurucuda muhafaza edilerek, kullanılacak olan ilaç tek seferde çözülüp tek seferde verildi. L-NAME ve nalokson, salinde homojen bir şekilde çözülerek farelere intraperitoneal yolla sırasıyla 10 mg/kg ve 5 mg/kg dozlarında verildi. Ondansetron 4 mg/ 2 ml oranlı müstahzardan 0.1 mg/kg dozundaki miktarı hesaplanarak farelere intraperitoneal yolla verildi. Formalin, salinle %10 oranında seyreltilerek sol arka pençeye intraplantar yolla verilmek üzere 30 µl hacminde uygulandı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin dağılımı Kolmogrov Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan çoklu grup analizinde tek yönlü ANOVA testi uygulandı, bu grupların post hoc analizde Tukey Honest-B testi kullanıldı (anlamlılık değeri olarak $p < 0.05$ alındı). Normal dağılıma uymayan çoklu grup analizinde Kruskal Wallis testi uygulandı, bu grupların post hoc analizinde Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hot plate testi için % MPE değerleri hesaplandı. Rotarod testi ve kan şekeri ölçüm analizlerinde bağımlı gruplar için Wilcoxon Rank testi yapıldı. Tüm analizler % 95 güven aralığında yapıldı. Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatistik analizleri için SPSS17.0 istatistik programı kullanıldı.

4. BULGULAR

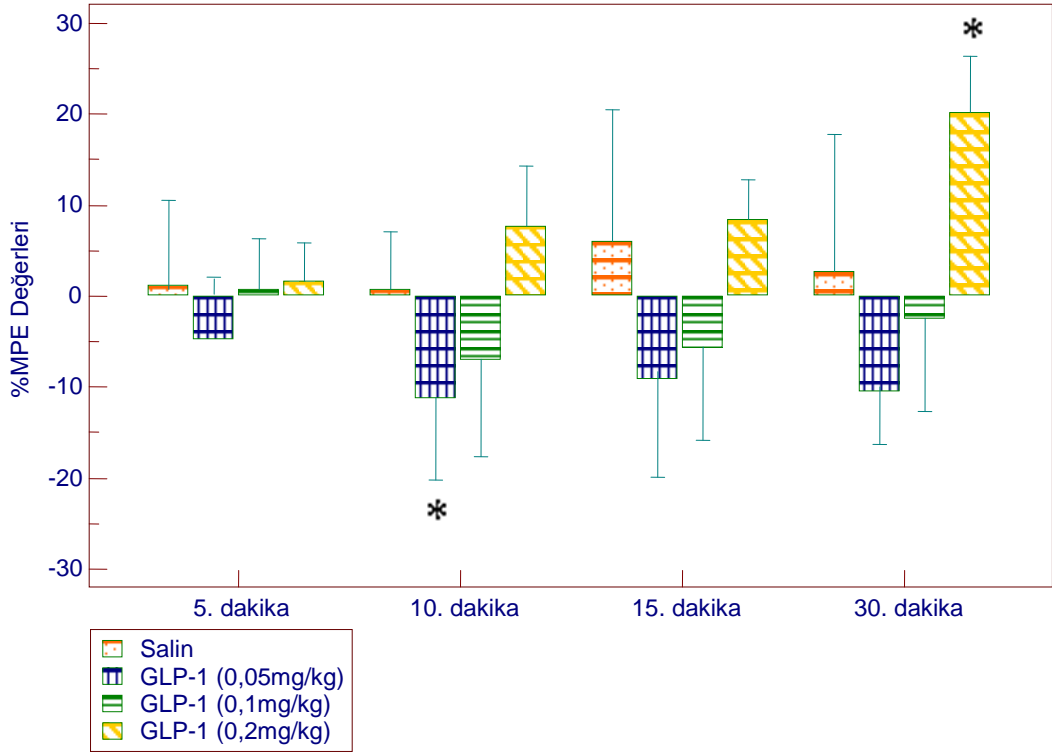
4.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Akut Uygulama Sonrasındaki Etkilerinin Araştırılmasının Sonuçları

4.1.1. GLP-1'in Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testi ile Araştırılmasının Sonuçları

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerleri; 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda salin grubu ile karşılaştırıldığında; GLP-1 0.05 mg/kg dozu 10. dakikada nosisepsiyon yönünde, 0,2 mg/kg dozu 30.dakikada antinosisepsiyon yönünde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo1, Şekil 8).

Tablo 1. GLP-1 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

	Değişken	Ortalama±standart sapma	p
5. Dakika	Salin	1.28±9.23	
	GLP-1 (0,05 mg/kg)	-4.80±6.87	0.219
	GLP-1 (0,1 mg/kg)	0.81±5.45	0.924
	GLP-1 (0,2 mg/kg)	1.71±4.23	0.930
10. Dakika	Salin	0.78±6.26	
	GLP-1 (0.05 mg/kg)	-11.24±9.02	0.014
	GLP-1 (0.1 mg/kg)	-7.08±10.63	0.101
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	7.76±6.60	0.144
15.Dakika	Salin	5.99±1.45	
	GLP-1 (0.05 mg/kg)	-9.20±10.71	0.100
	GLP-1 (0.1 mg/kg)	-5.72±10.07	0.201
	GLP-1 (0,2 mg/kg)	8.51±4.23	0.715
30. Dakika	Salin	2.69±1.50	
	GLP-1 (0.05mg/kg)	-10.56±5.66	0.117
	GLP-1 (0.1mg/kg)	-2.49±10.16	0.584
	GLP-1 (0.2mg/kg)	20.14±6.21	0.018



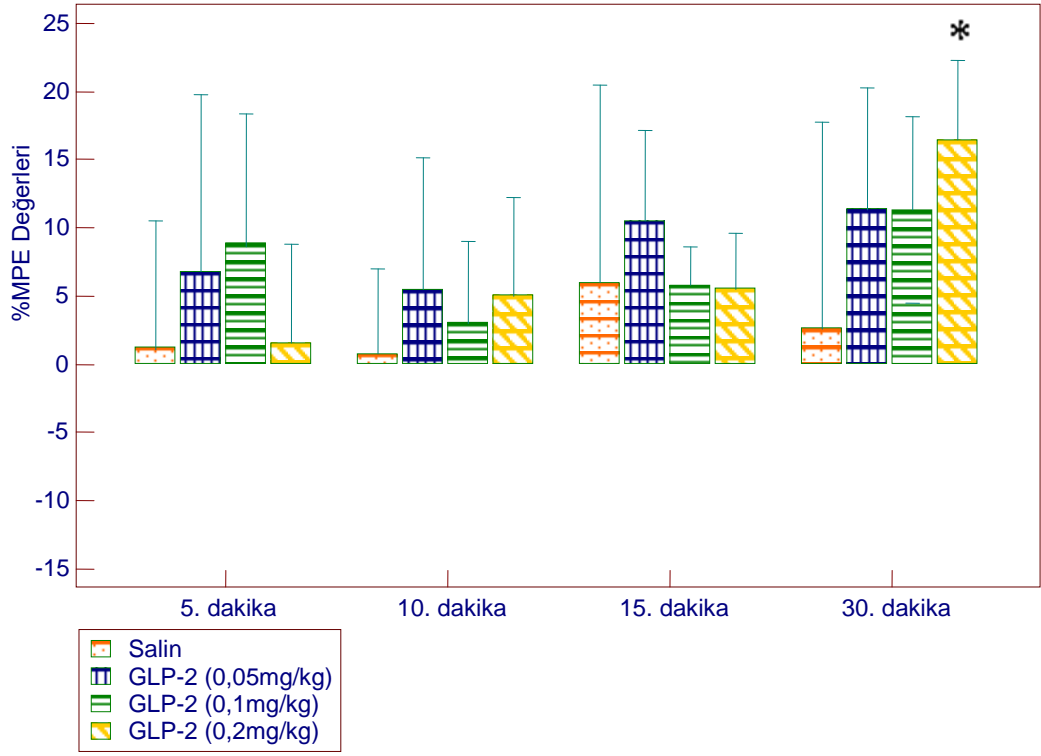
Şekil 8. GLP-1 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerlerinin salin grubuna göre hot plate testinde karşılaştırılması. Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. (*: salin grubuna göre anlamlılık). Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.2. GLP-2'in Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testi ile Araştırılmasının Sonuçları

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerleri; 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda salin grubu ile karşılaştırıldığında; GLP-2'nin uygulanan tüm dozlarında % MPE değerlerinde antinosiseptif etki anlamında bir artış görülmesine rağmen, bu artış GLP-2 0.2 mg/kg dozunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 2, Şekil 9).

Tablo 2. GLP-2 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması.

	Değişken	Ortalama±standart sapma	P
5. Dakika	Salin	1.28±9.23	
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	6.83±12.95	0.259
	GLP-2 (0.1 mg/kg)	8.87±9.49	0.125
	GLP-2 (0.2 mg/kg)	1.54±7.33	0.958
10. Dakika	Salin	0.78±6.26	
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	5.48±9.71	0.321
	GLP-2 (0.1 mg/kg)	3.06±5.98	0.628
	GLP-2 (0.2 mg/kg)	5.14±7.11	0.357
15. Dakika	Salin	5.99±1.45	
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	10.50±6.68	0.464
	GLP-2 (0.1 mg/kg)	5.82±2.79	0.855
	GLP-2 (0.2 mg/kg)	5.63±4.01	1.000
30. Dakika	Salin	2.69±1.50	
	GLP-2 (0.05mg/kg)	11.41±8.86	0.361
	GLP-2 (0.1mg/kg)	11.36±6.85	0.201
	GLP-2 (0.2mg/kg)	16.44±5.86	0.046



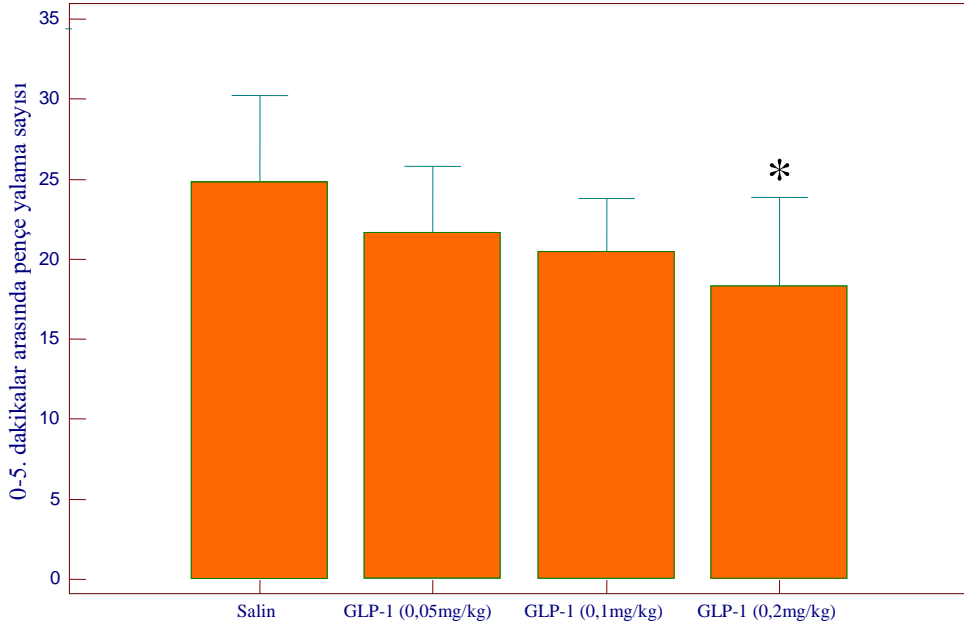
Şekil 9. GLP-2 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerlerinin salin grubuna göre hot plate testinde karşılaştırılması. Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. (*: salin grubuna göre anlamlılık). Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.3. GLP-1'in Antiinflatuar Etkisinin Formalin Testinde Araştırılmasının Sonuçları

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında, GLP-1 (0,2 mg/kg) dozunda pençe yalama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 3, Şekil 10).

Tablo 3. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	24.83±5.42	
GLP-1 (0.05 mg/kg)	21.67±4.13	0.255
GLP-1 (0.1 mg/kg)	20.50±3.27	0.125
GLP-1 (0.2 mg/kg)	18.33±5.54	0.026

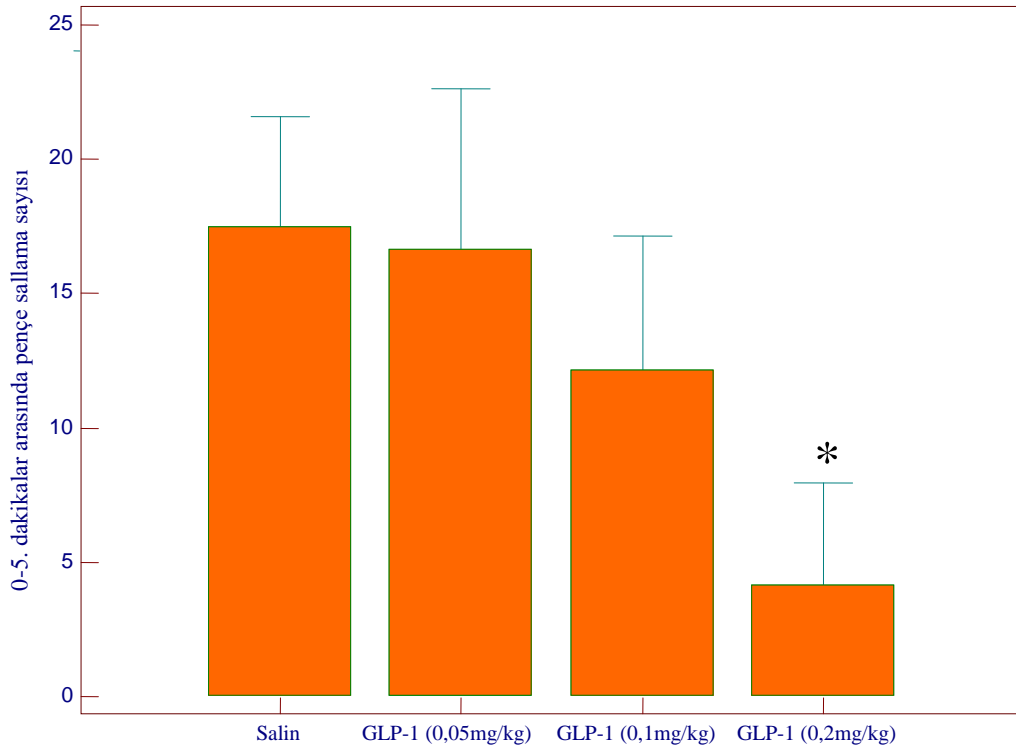


Şekil 10. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5.dakikalar arasında pençe yalama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-1 (0,2 mg/kg) dozunda pençe sallama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4, Şekil 11).

Tablo 4. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	17.50±4.09	
GLP-1 (0.05 mg/kg)	16.67±5.96	0.766
GLP-1 (0.1 mg/kg)	12.17±5.00	0.067
GLP-1 (0.2 mg/kg)	4.17±3.76	<0.001

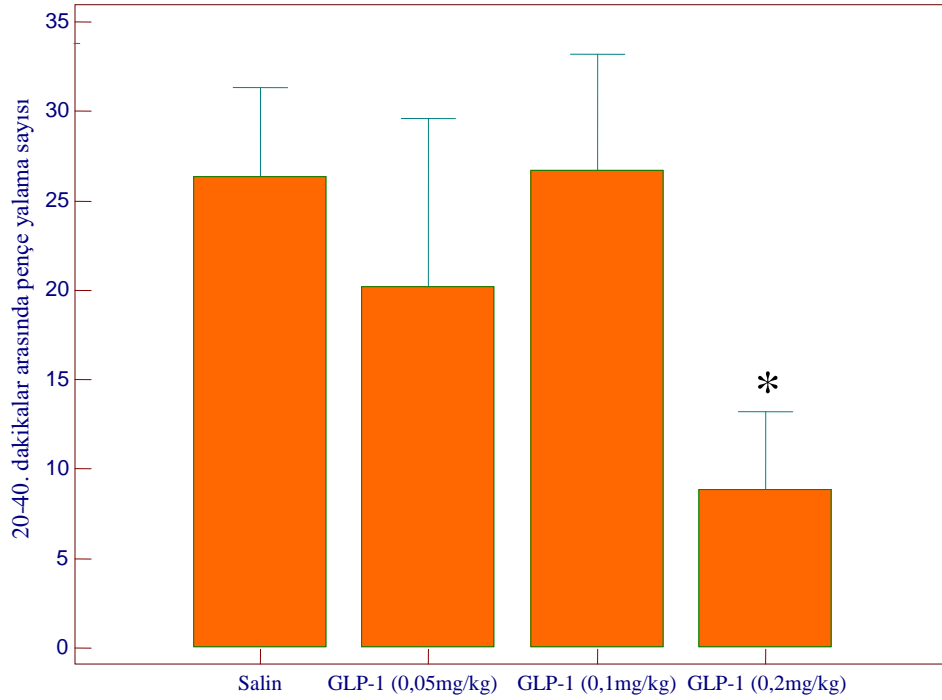


Şekil 11. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-1 (0,2 mg/kg) dozunda pençe yalama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 5, Şekil 12).

Tablo 5. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	26.33±5.01	
GLP-1 (0.05 mg/kg)	20.17±9.41	0.123
GLP-1 (0.1 mg/kg)	26.67±6.56	0.932
GLP-1 (0.2 mg/kg)	8.83±4.40	<0.001

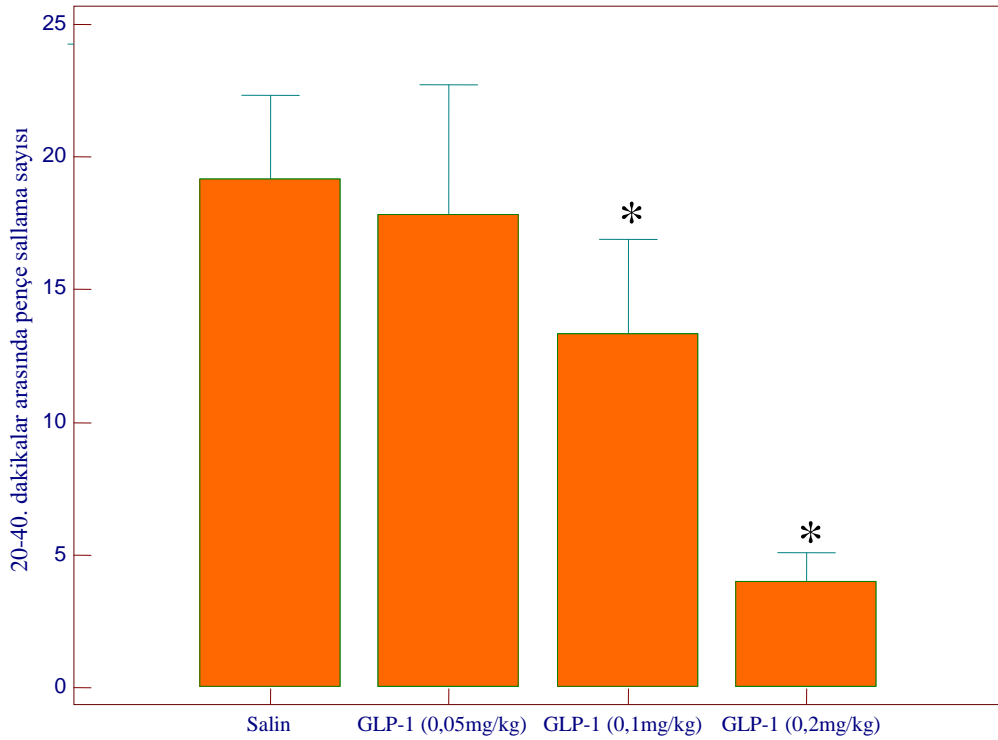


Şekil 12. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-1 (0,1 mg/kg, 0.2 mg/kg) dozlarında pençe sallama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 6, Şekil 13).

Tablo 6. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	19.17±3.19	
GLP-1 (0.05 mg/kg)	17.83±4.88	0.512
GLP-1 (0.1 mg/kg)	13.33±3.56	0.008
GLP-1 (0.2 mg/kg)	4.00±1.10	<0.001

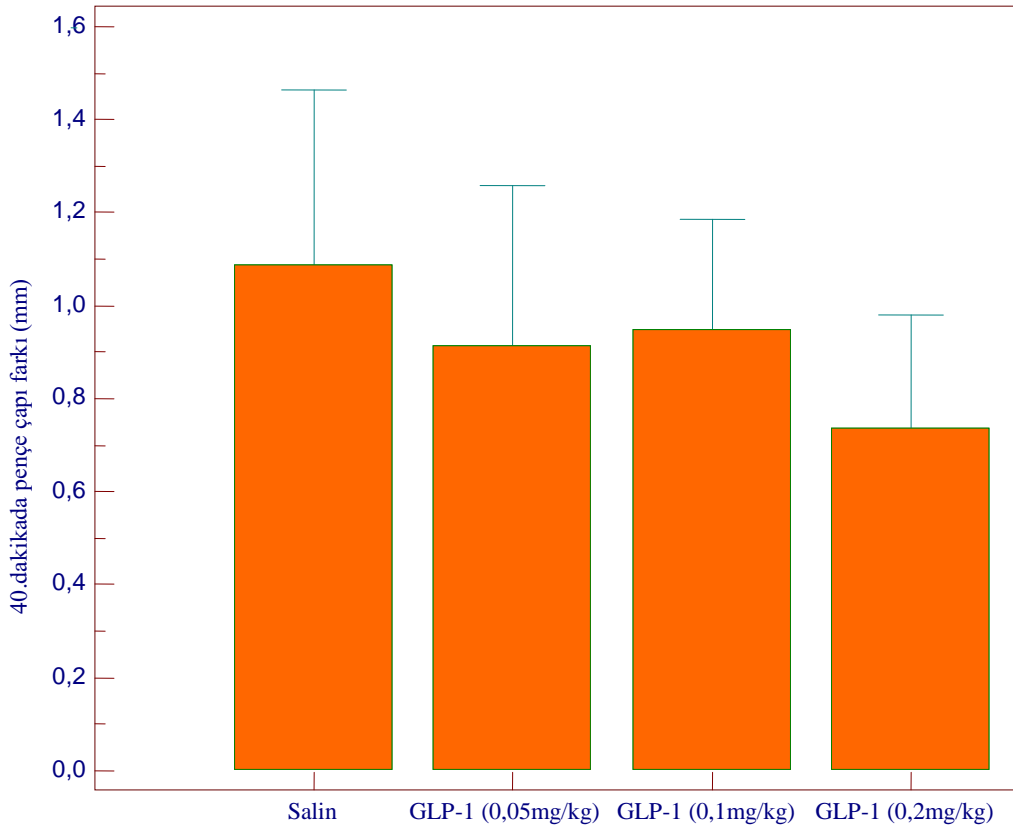


Şekil 13. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubunagöre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak bir anlamlılık gözlenmedi (Tablo 7, Şekil 14).

Tablo 7. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Pençe Çaplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	1.09±0.38	
GLP-1 (0.05 mg/kg)	0.91±0.34	0.339
GLP-1 (0.1 mg/kg)	0.95±0.23	0.449
GLP-1 (0.2 mg/kg)	0.74±0.24	0.063



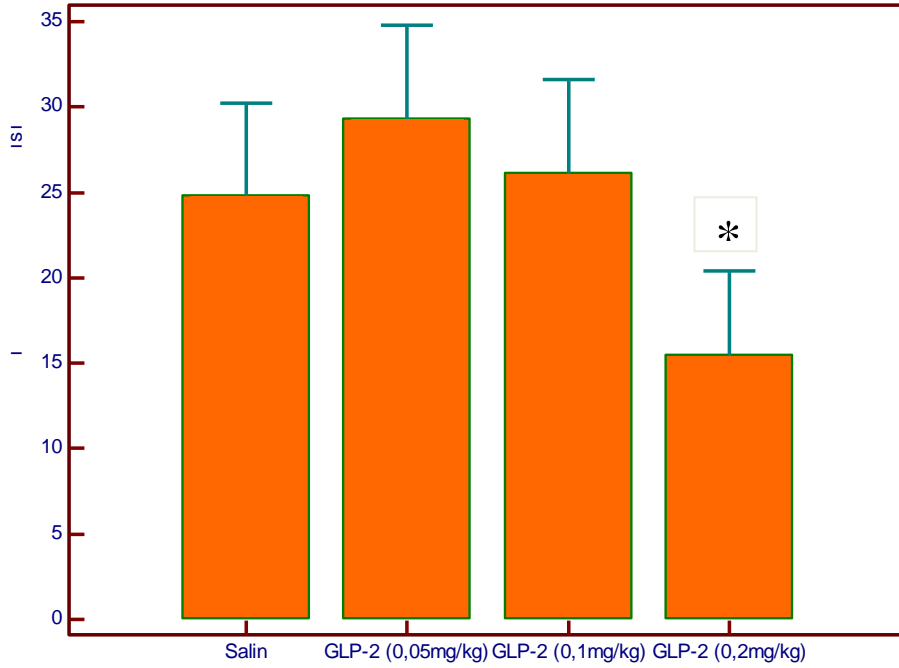
Şekil 14. GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması. Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.4. GLP-2'nin Antiinflamatuvar Etkisinin Formalin Testinde Araştırılmasının Sonuçları

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-2 (0,2 mg/kg) dozunda pençe yalama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 8, Şekil 15).

Tablo 8. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	24.83±5.42	
GLP-2 (0.05 mg/kg)	29.33±5.47	0.159
GLP-2 (0.1 mg/kg)	26.17±5.46	0.669
GLP-2 (0.2 mg/kg)	15.50±4.93	0.007

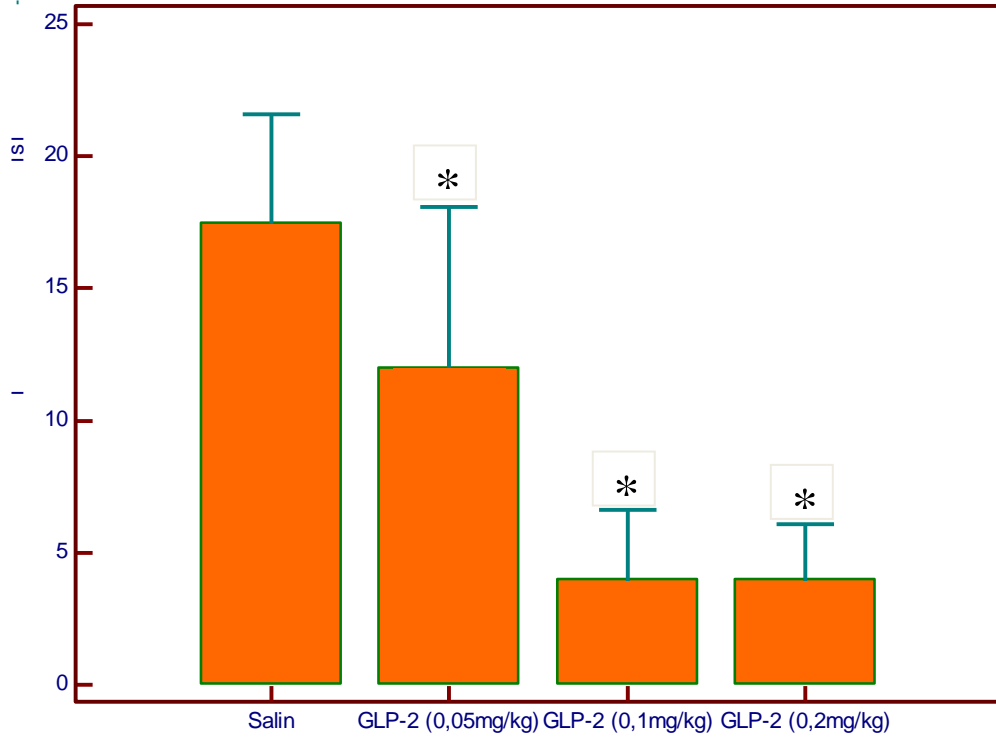


Şekil 15. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-2 (0,05 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) dozlarında pençe sallama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 9, Şekil 16).

Tablo 9. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	17.50±4.09	
GLP-2 (0.05 mg/kg)	12.00±6.07	0.028
GLP-2 (0.1 mg/kg)	4.00±2.61	<0.001
GLP-2 (0.2 mg/kg)	4.00±2.10	<0.001

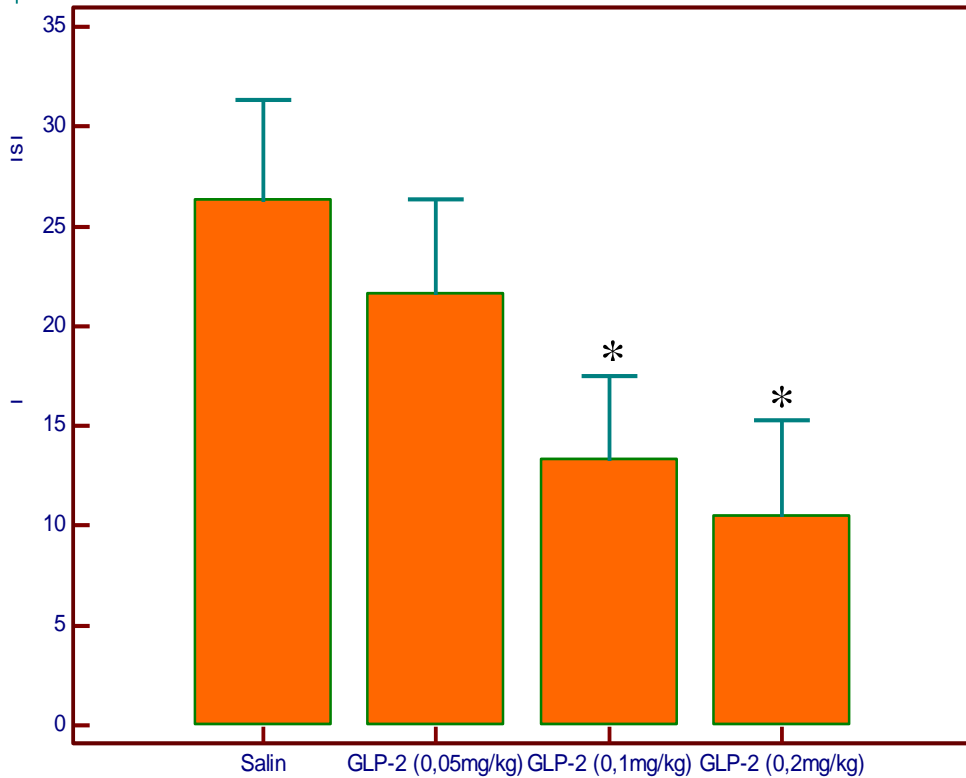


Şekil 16. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-2 (0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg) dozlarında pençe yalama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu ($p<0,05$) (Tablo 10, Şekil 17).

Tablo 10. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	26.33±5.01	
GLP-2 (0.05 mg/kg)	21.67±4.68	0.099
GLP-2 (0.1 mg/kg)	13.33±4.18	<0.001
GLP-2 (0.2 mg/kg)	10.50±4.76	<0.001

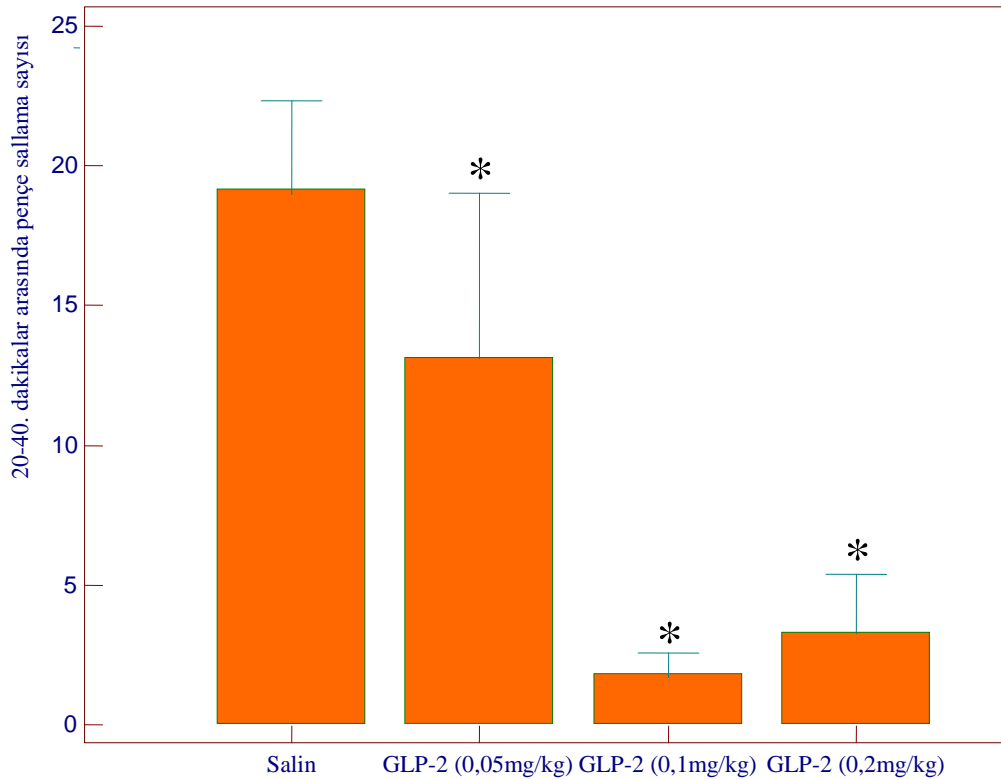


Şekil 17. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları salin grubu ile karşılaştırıldığında GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) dozlarında pençe sallama sayısındaki azalma salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 11, Şekil 18).

Tablo 11. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	19.17±3.19	
GLP-2 (0.05 mg/kg)	13.17±5.85	0.008
GLP-2 (0.1 mg/kg)	1.83±0.75	<0.001
GLP-2 (0.2 mg/kg)	3.33±2.07	<0.001

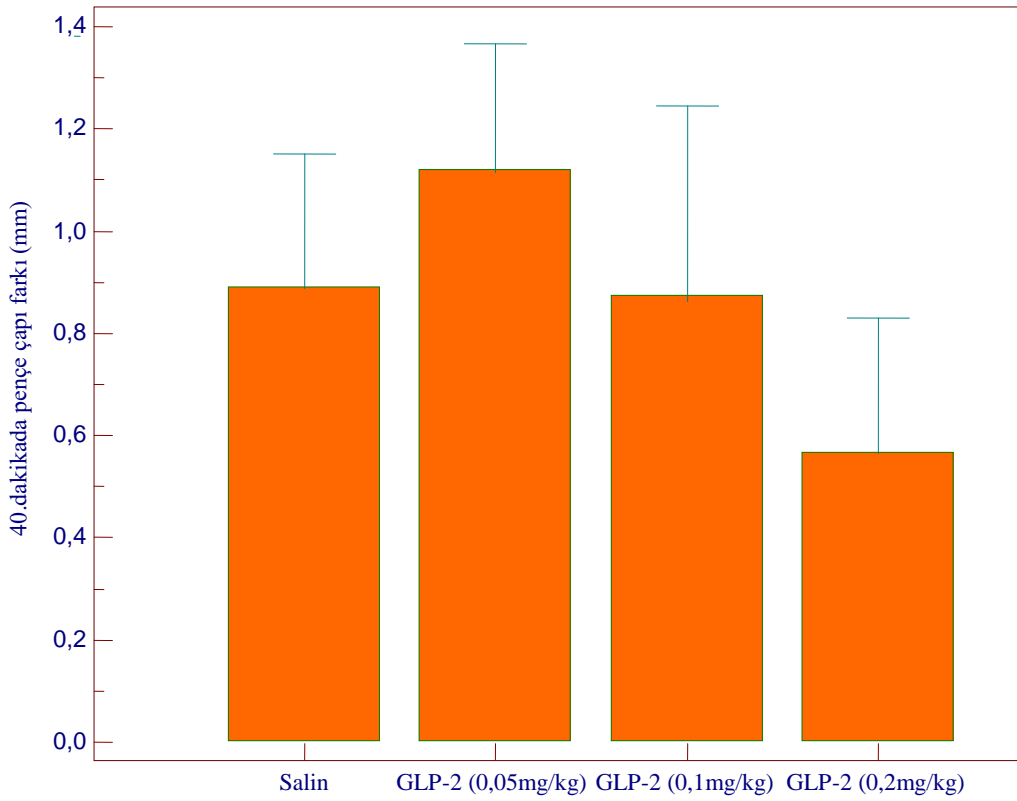


Şekil 18. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak bir anlamlılık gözlenmedi (Tablo 12, Şekil 19).

Tablo 12. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Pençe Çaplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
Salin	0.86±0.20	
GLP-2 (0.05 mg/kg)	1.18±0.25	0.085
GLP-2 (0.1 mg/kg)	0.80±0.35	0.742
GLP-2 (0.2 mg/kg)	0.61±0.37	0.167



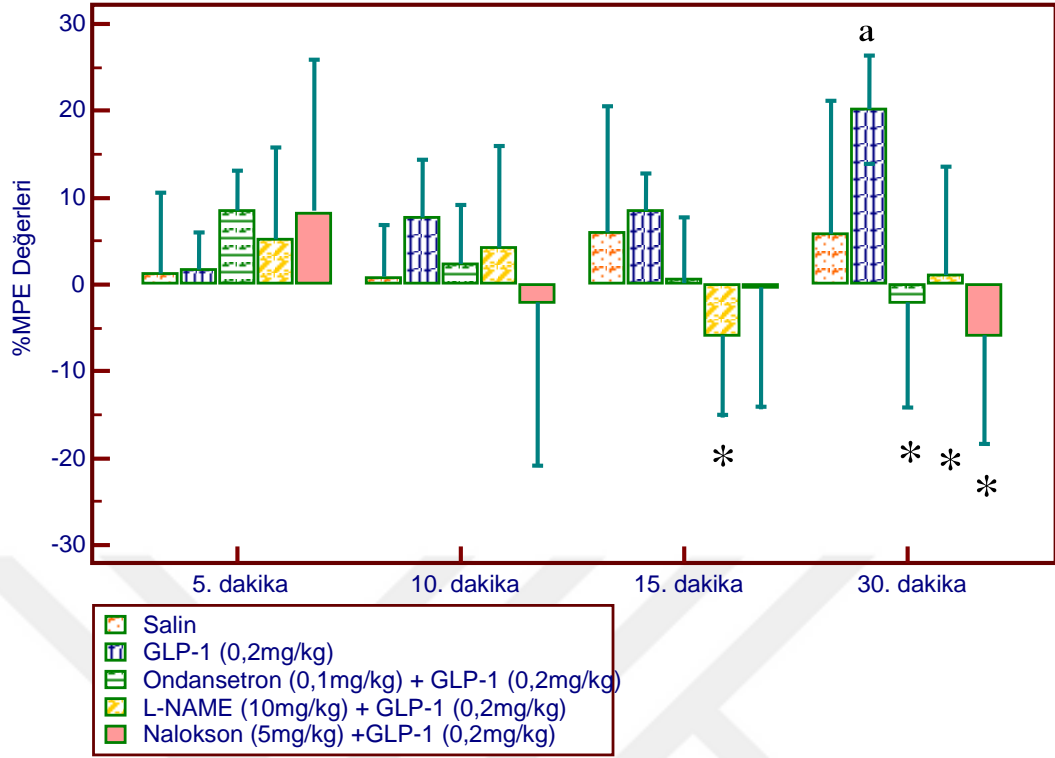
Şekil 19. GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması. Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.5. GLP-1'in Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Mekanizmasının Araştırılması

GLP-1 (0.2 mg/kg)'ın antinosiseptif etkisinin 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, 15. dakikada L-NAME varlığında, 30. dakikada ise her üç antagonist varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$) (Tablo 13, Şekil 20).

Tablo 13. GLP-1 (0,2 mg/kg)'ın Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında Hot Plate Testinde % MPE Değerlerinin Karşılaştırılması

Değişken		Ortalama±standard sapma	P
5. Dakika	GLP-1 (0.2 mg/kg)	1.71±4.23	
	Ondansetron+ GLP-1 (0.2 mg/kg)	8.49±4.65	0.319
	L- NAME + GLP-1 (0.2 mg/kg)	5.15±10.63	0.611
	Nalokson+ GLP-1 (0.2 mg/kg)	8.27±17.70	0.335
10. Dakika	GLP-1 (0.2 mg/kg)	7.76±6.60	
	Ondansetron+ GLP-1 (0.2 mg/kg)	2.40±6.72	0.474
	L- NAME + GLP-1 (0.2 mg/kg)	4.32±11.60	0.645
	Nalokson+ GLP-1 (0.2 mg/kg)	-2.28±18.58	0.184
15. Dakika	GLP-1 (0.2 mg/kg)	8.51±4.23	
	Ondansetron+GLP-1 (0.2 mg/kg)	0.56±7.17	0.130
	L- NAME +GLP-1 (0.2 mg/kg)	-6.03±9.36	0.007
	Nalokson+GLP-1 (0.2 mg/kg)	-0.54±13.90	0.086
30.Dakika	GLP-1 (0.2 mg/kg)	20.14±6.21	
	Ondansetron+GLP-1 (0.2 mg/kg)	-2.20±11.80	0.009
	L- NAME +GLP-1 (0.2 mg/kg)	1.04±12.50	0.023
	Nalokson+GLP-1 (0.2 mg/kg)	-5.98±12.46	0.002



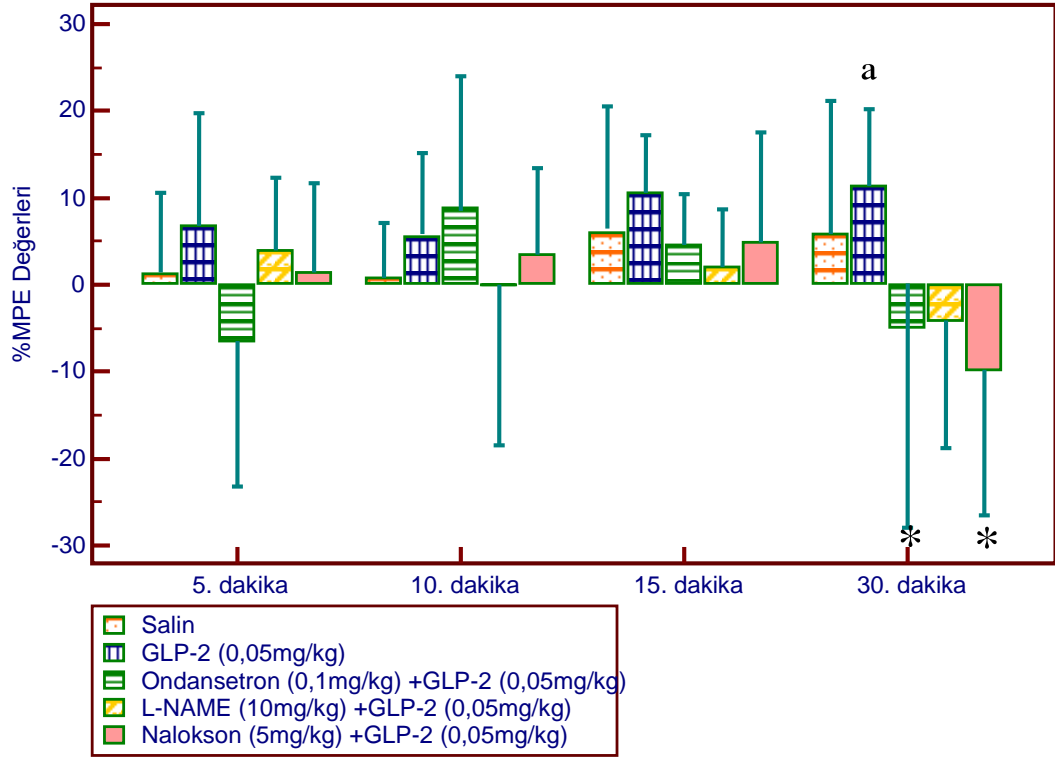
Şekil 20. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında hot plate testinde % MPE değerlerinin karşılaştırılması. (*: GLP-1 0,2 mg/kg'a göre anlamlılık, a: GLP-1 0.2 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.6 GLP-2'nin Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Mekanizmasının Araştırılması

GLP-2 (0.05 mg/kg)'in antinosiseptif etkisinin 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, 30. dakikada GLP-2 (0,05 mg/kg)'in antinosiseptif etkisinde ondansetron (0.1 mg/kg) ve nalokson (5 mg/kg) varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$) (Tablo 14, Şekil 21).

Tablo 14. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında Hot Plate Testinde % MPE Değerlerinin Karşılaştırılması

	Değişken	Ortalama±standart sapma	P
5. Dakika	GLP-2 (0.05 mg/kg)	6.83±12.95	
	Ondansetron+GLP-2 (0.05 mg/kg)	-6.63±16.59	0.052
	L- NAME +GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.01±8.32	0.677
	Nalokson+GLP-2 (0.05 mg/kg)	1.36±10.31	0.421
10. Dakika	GLP-2 (0.05 mg/kg)	5.48±9.71	
	Ondansetron+GLP-2 (0.05 mg/kg)	8.84±15.18	0.653
	L- NAME +GLP-2 (0.05 mg/kg)	-0.23±18.21	0.446
	Nalokson+GLP-2 (0.05 mg/kg)	3.53±9.82	0.794
15. Dakika	GLP-2 (0.05 mg/kg)	10.50±6.68	
	Ondansetron+GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.51±5.87	0.107
	L- NAME +GLP-2 (0.05 mg/kg)	2.01±6.64	0.278
	Nalokson+GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.83±12.76	0.060
30. Dakika	GLP-2 (0.05 mg/kg)	11.41±8.86	
	Ondansetron+GLP-2 (0.05 mg/kg)	-5.13±22.77	0.048
	L- NAME +GLP-2 (0.05 mg/kg)	-4.30±14.54	0.059
	Nalokson+GLP-2 (0.05 mg/kg)	-10.01±16.53	0.012



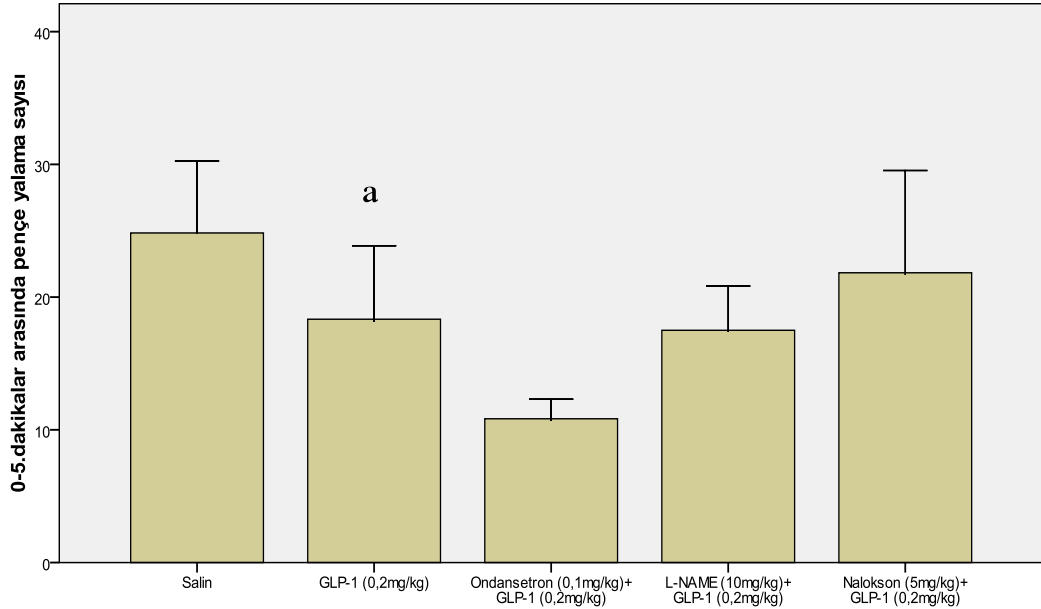
Şekil 21. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında hot plate testinde % MPE değerlerinin karşılaştırılması (*: GLP-2 0,05 mg/kg'a göre anlamlılık, a: GLP-2 0.05 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.1.7. GLP-1'in Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Mekanizmasının Araştırılması

GLP-1 (0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo 15, Şekil 22).

Tablo 15. GLP-1 (0,2 mg/kg)'ın Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-1 (0,2 mg/kg)	18,33±5.54	
Ondansetron (0,1 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	10,83±1.47	0,385
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	17,50±3,33	1,00
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	21,83±7,70	0,957

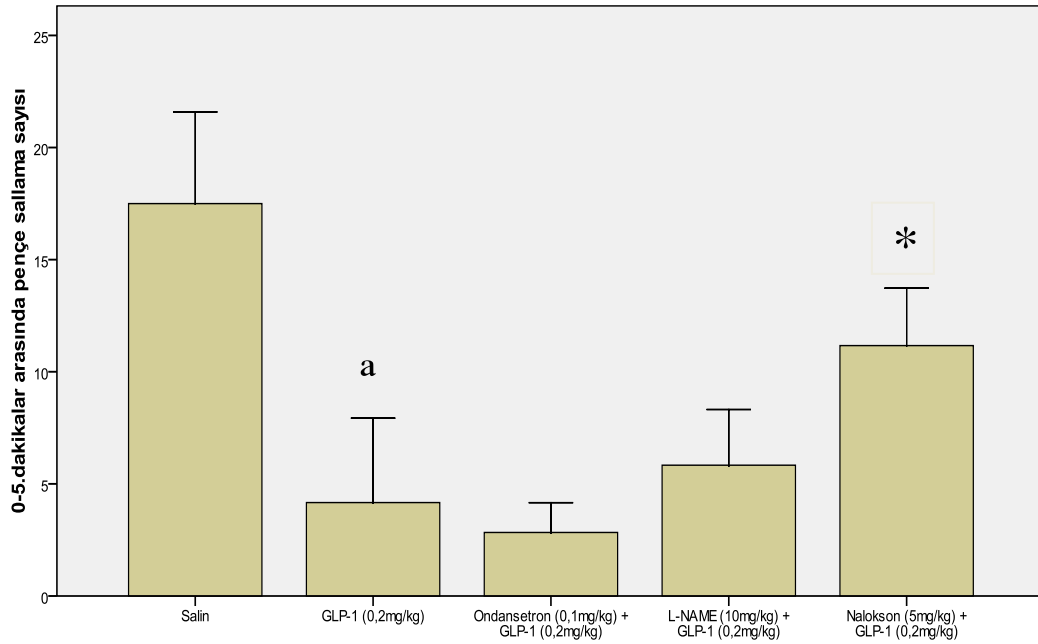


Şekil 22. GLP-1 (0,2 mg/kg)'ın ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (GLP-1 0,2 mg/kg'a göre karşılaştırma, a: GLP-1 0,2 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, nalokson (5 mg/kg) varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$) (Tablo 16, Şekil 23).

Tablo 16. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	P*
GLP-1 (0,2 mg/kg)	4,17±3,76	
Ondansetron (0,1 mg/kg)+ GLP-1 (0,2 mg/kg)	2,83±1,32	0,937
L-NAME (10 mg/kg)+ GLP-1 (0,2 mg/kg)	5,83±2,48	0,240
Nalokson (5 mg/kg)+ GLP-1 (0,2 mg/kg)	11,17±2,56	0,026

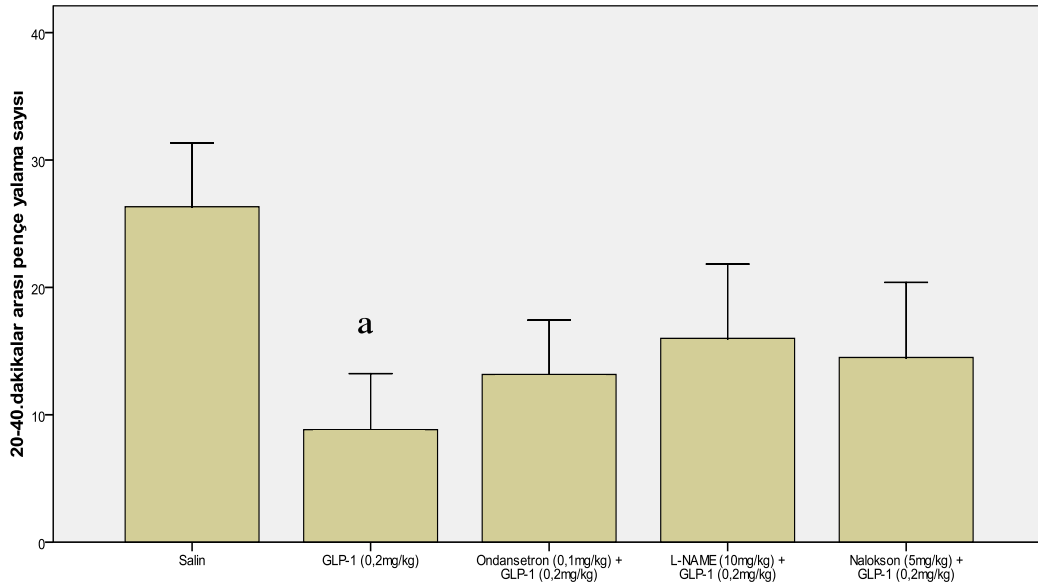


Şekil 23. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması. (*: GLP-1 0,2 mg/kg'a göre anlamlılık, a: GLP-1 0.2 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo 17, Şekil 24).

Tablo 17. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-1 (0,2 mg/kg)	8,83±4,40	
Ondansetron (0,1 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	13,17±4,26	1,00
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	16,00±5,83	0,968
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	14,50±5,89	0,997

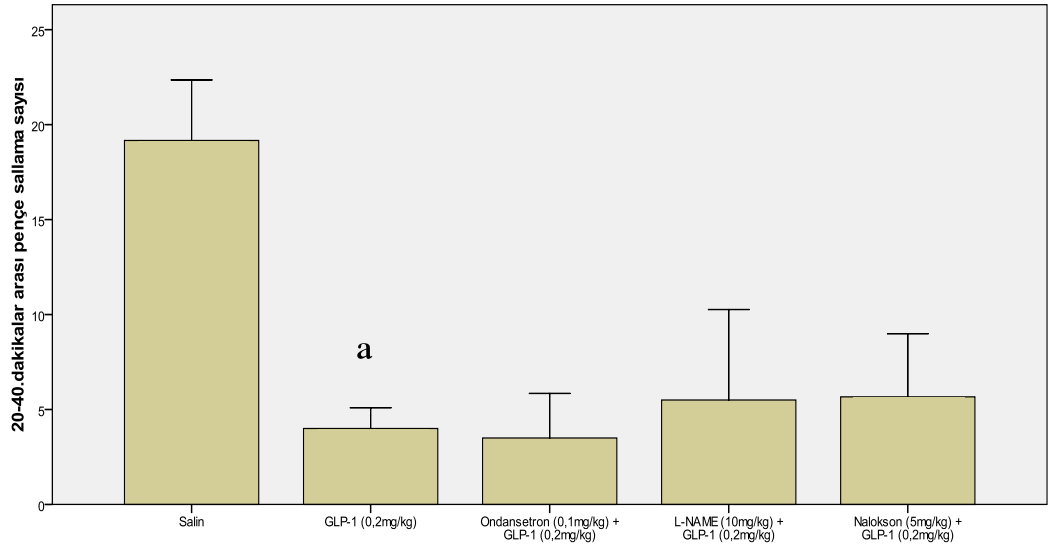


Şekil 24. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40.dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (GLP-1 0,2 mg/kg'a göre karşılaştırma, a: GLP-1 0,2 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.2 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları ile ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo 18, Şekil 25).

Tablo 18. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-1 (0,2 mg/kg)	4,00±1,10	
Ondansetron (0,1 mg/kg) +GLP-1 (0,2 mg/kg)	3,50±2,35	1,00
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	5,50±4,76	1,00
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-1 (0,2 mg/kg)	5,67±3,33	1,00



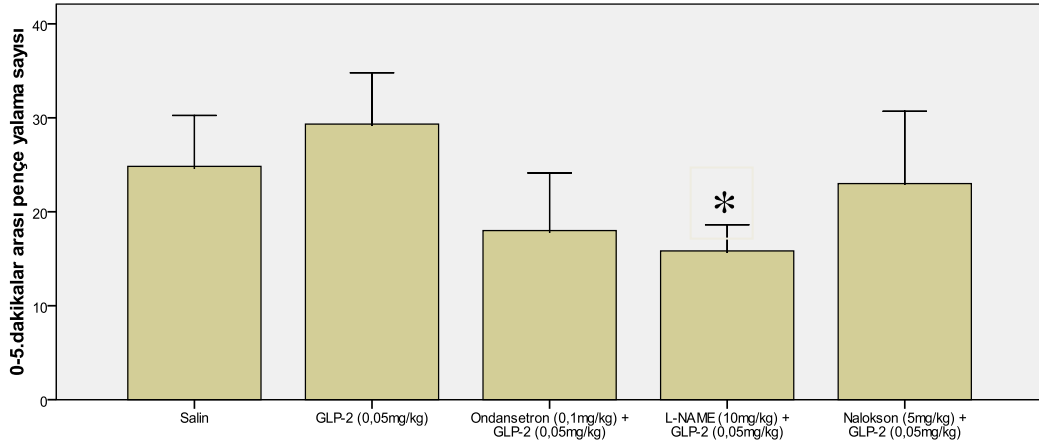
Şekil 25. GLP-1 (0,2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson(5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (GLP-1 0,2 mg/kg'a göre karşılaştırma, a: GLP-1 0.2 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri p<0,05 olarak alınmıştır.

4.1.8. GLP-2'in Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Mekanizmasının Araştırılması

GLP-2 (0.05 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, L-NAME (10 mg/kg) varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görüldü ($p < 0,05$) (Tablo 19, Şekil 26).

Tablo 19. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-2 (0,05 mg/kg)	29,33±5,47	
Ondansetron (0,1 mg/kg)+ GLP-2 (0,05 mg/kg)	18,00±6,13	0,064
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	15,83±2,79	0,009
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	23,00±7,69	0,855

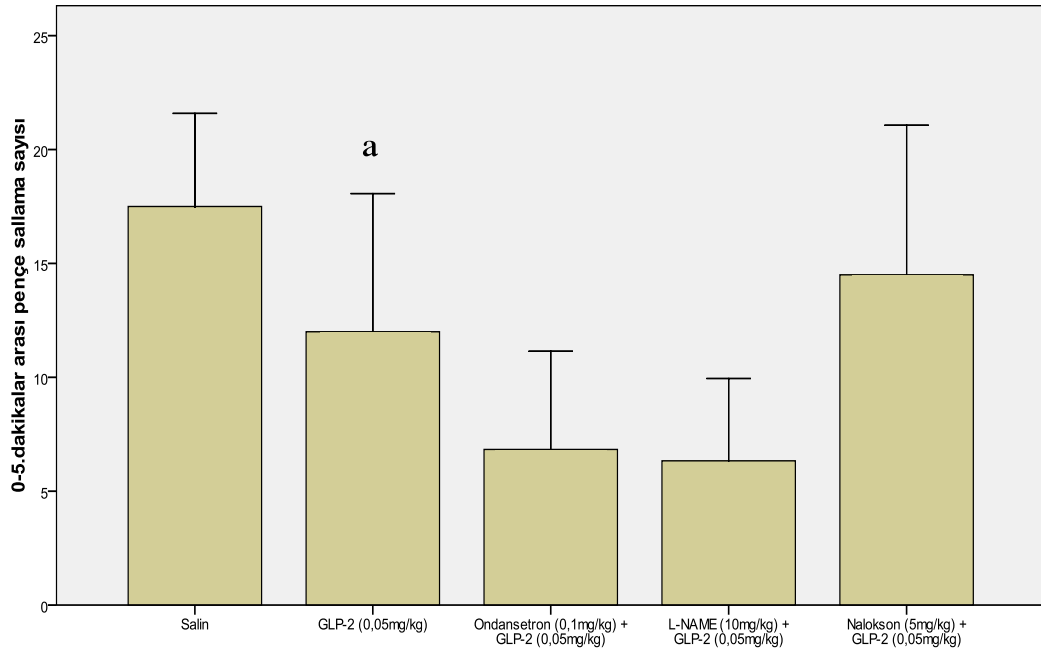


Şekil 26. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (*: GLP-2 (0,05 mg/kg)'a göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg) uygulanan farelerin 0-5. dakikalar arasında pençe sallama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, 0-5. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo 20, Şekil 27).

Tablo 20. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson(5 mg/kg) Varlığında 0-5. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-2 (0,05 mg/kg)	12,00±6,07	
Ondansetron (0,1 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	6,83±4,31	0,967
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	6,33±3,62	0,931
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	14,50±6,57	1,00

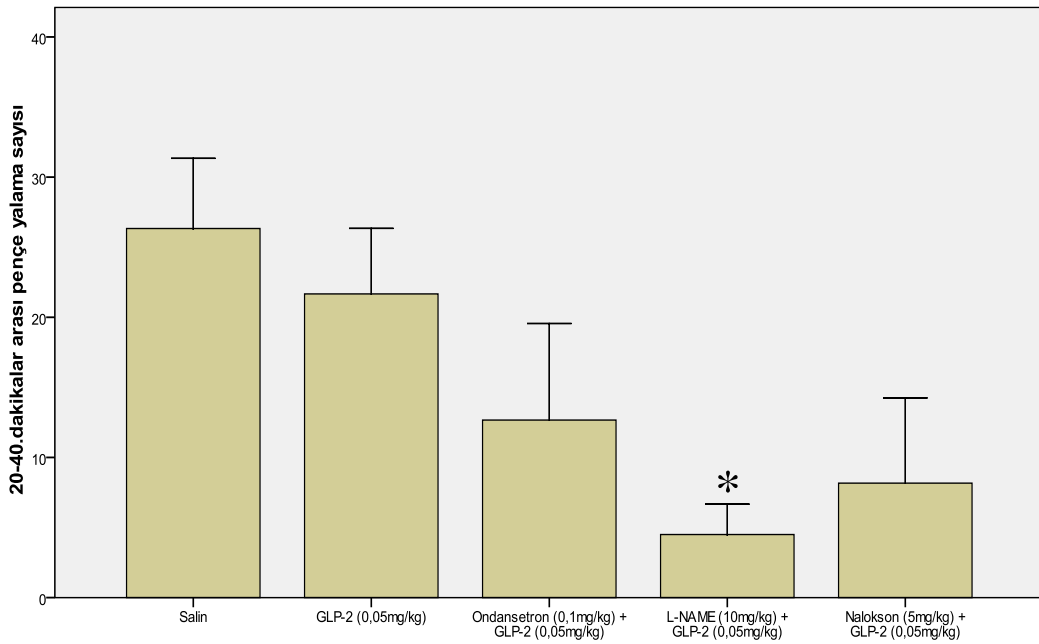


Şekil 27. GLP-2 (0,05 mg/kg)'nin ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 0-5.dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (GLP-2 0,05 mg/kg'a göre karşılaştırma, a: GLP-2 0,05 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında, istatistiksel olarak L-NAME (10 mg/kg) varlığında anlamlı bir değişiklik görüldü ($p<0,05$) (Tablo 21, Şekil 28).

Tablo 21. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-2 (0,05 mg/kg)	21,67±4,68	
Ondansetron (0,1 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	12,67±6,89	0,829
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	4,50±2,17	0,025
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	8,17±6,08	0,206

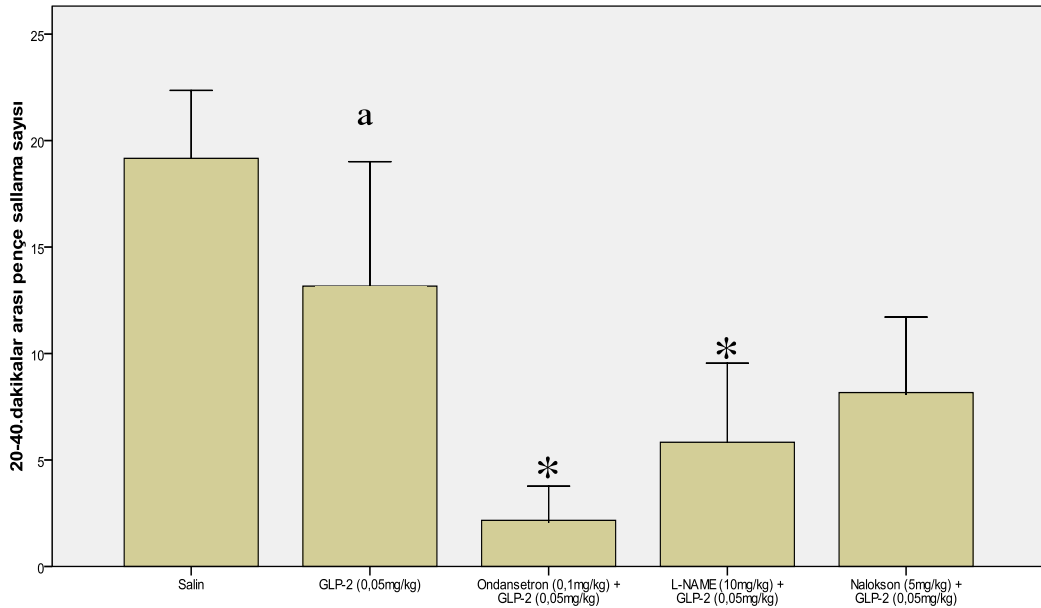


Şekil 28. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (*: GLP-2(0,05 mg/kg)'a göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-2 (0.05 mg/kg) uygulanan farelerin 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırıldığında; ondansetron (0.1 mg/kg) ve L-NAME (10 mg/kg) varlığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görüldü ($p<0,05$) (Tablo 22, Şekil 29).

Tablo 22. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in Ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), Nalokson (5 mg/kg) Varlığında 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Sallama Sayılarının Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
GLP-2 (0,05 mg/kg)	13,17±5,85	
Ondansetron (0,1 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	2,17±1,60	0,001
L-NAME (10 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	5,83±3,71	0,022
Nalokson (5 mg/kg) + GLP-2 (0,05 mg/kg)	8,17±3,54	0,163



Şekil 29. GLP-2 (0,05 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayıları üzerine etkilerinin karşılaştırılması (*: GLP-2 0,05 mg/kg'a göre anlamlılık, a: GLP-2 0.05 mg/kg'ın saline göre anlamlılığı). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p<0,05$ olarak alınmıştır.

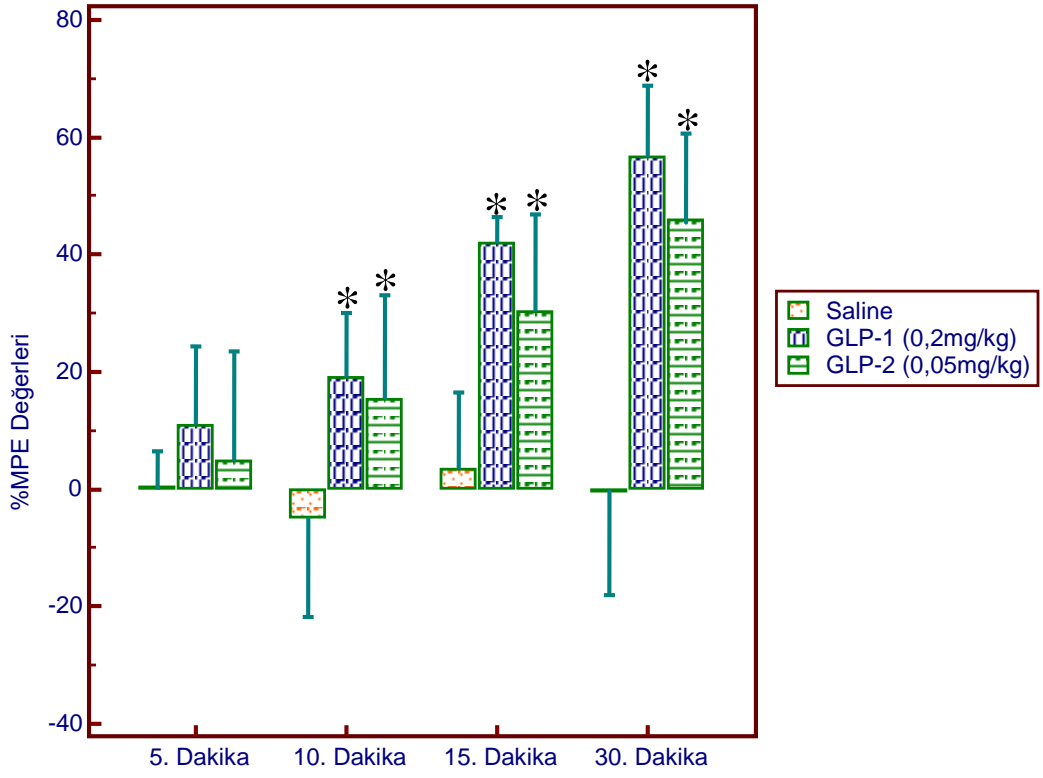
4.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasındaki Etkilerinin Araştırılmasının Sonuçları

4.2.1. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasında Antinosiseptif Etkilerinin Hot Plate Testinde Araştırılması

GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin % MPE değerleri, 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda salin grubu ile karşılaştırıldığında her iki ilacın uygulandıktan sonraki 10., 15. ve 30. dakikalarda hot plate testinde antinosiseptif etkilerinde salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü (Tablo 23, Şekil 30).

Tablo 23. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 Gün Süreyle Kronik Uygulanan Farelerin % MPE Değerlerinin Hot Plate Testinde Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

		Ortalama±Standart sapma	p
5. Dakika	Salin	0.36±6.21	
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	10.93±13.99	0.243
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.87±18.63	0.611
10. Dakika	Salin	-5.03±16.76	
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	19.12±10.98	0.021
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	15.32±17.85	0.047
15. Dakika	Salin	3.34±13.05	
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	41.96±4.48	<0.001
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	30.35±16.39	0.003
30. Dakika	Salin	-0.47±17.68	
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	56.59±12.32	<0.001
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	46.01±14.65	<0.001



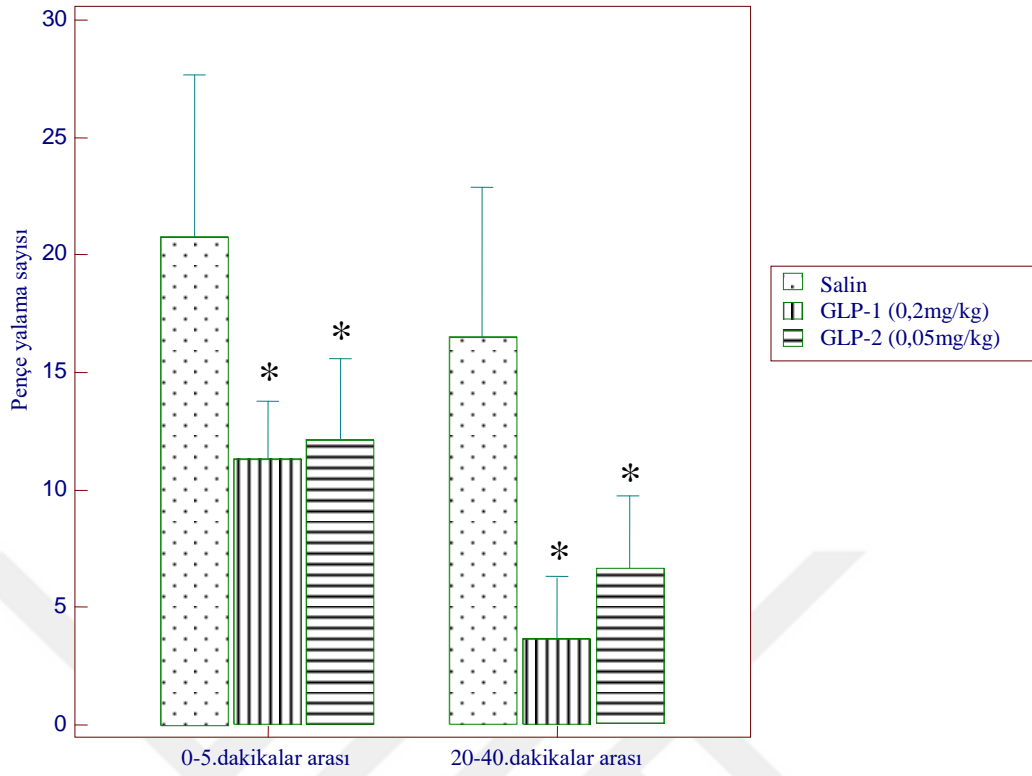
Şekil 30. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin % MPE değerlerinin hot plate testinde salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.2.2. GLP-1 ve GLP-2'nin Kronik Uygulama Sonrasında Antiinflamatuvar Etkilerinin Formalin Testinde Araştırılması

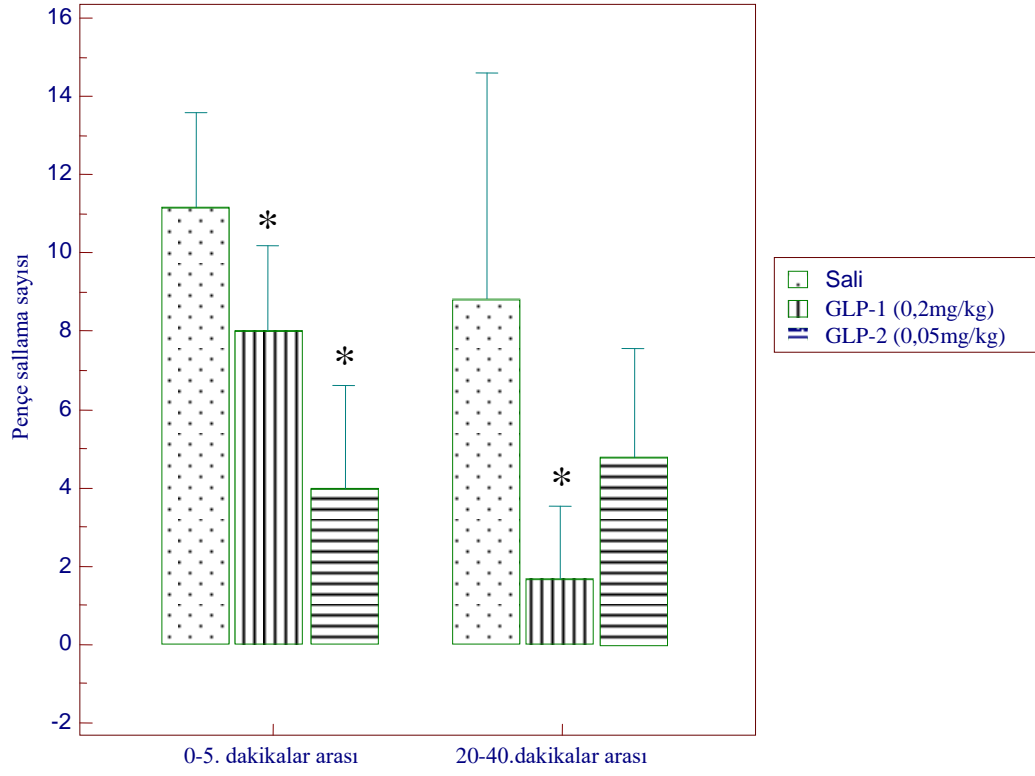
GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe yalama ve sallama sayılarının salin grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azaldığı görüldü (GLP-2 0,05 mg/kg dozunda 20-40. dakikalar arasındaki sallama sayısı hariç) ($p<0,05$) (Tablo 24, Şekil 31-32).

Tablo 24. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 Gün Süreyle Kronik Uygulanan Farelerin 0-5. Dakikalar ve 20-40. Dakikalar Arasında Pençe Yalama ve Sallama Sayılarının Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

Değişken	Ortalama±standart sapma	p
0-5.dakikalar arasında pençe yalama sayısı	Salin	20.83±6.5
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	11.33±2.42
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	12.17±3.43
0-5.dakikalar arasında pençe sallama sayısı	Salin	11.17±2.40
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	8.00±2.19
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.00±2.60
20-40.dakikalar arasında pençe yalama sayısı	Salin	16.50±6.38
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	3.67±2.58
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	6.67±3.08
20-40.dakikalar arasında pençe sallama sayısı	Salin	8.83±5.78
	GLP-1 (0.2 mg/kg)	1.67±1.86
	GLP-2 (0.05 mg/kg)	4.83±2.71



Şekil 31. GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

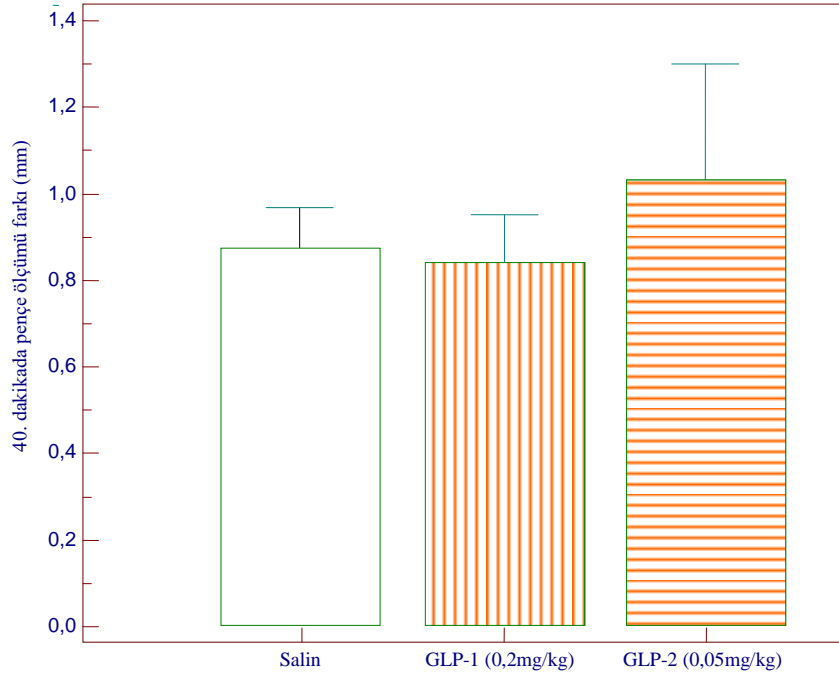


Şekil 32. GLP-1 (0.2 mg/kg)ve GLP-2 (0,05 mg/kg) 14 gün süreyle kronik uygulanan farelerin 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe sallama sayılarının salin grubuna göre karşılaştırılması (*: salin grubuna göre anlamlılık). Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmedi (Tablo 25, Şekil 33).

Tablo 25. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin 40. Dakikadaki Pençe Çaplarındaki Farkın Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

	Ortalama±standart sapma	p
Salin	0.88±0.09	
GLP-1 (0.2 mg/kg)	0.84±0.11	0.747
GLP-2 (0.05 mg/kg)	1.03±0.27	0.140



Şekil 33. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) uygulanan farelerin 40. dakikadaki pençe çaplarındaki farkın salin grubuna göre karşılaştırılması. Veriler ortalama± standart sapma olarak sunulmuştur. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4.3. GLP-1 ve GLP-2'nin Rotarod Testi ve Kan Şekeri Ölçümüne Olan Etkilerinin İncelenmesinin Sonuçları

GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) uygulanan farelerin rotarod testinde lökomotor aktivitelerinin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmedi (Tablo 26).

Tablo 26. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin Rotarod Testinde Lökomotor Aktivitelerinin İlaç Öncesi Ve İlaç Sonrası Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

	Rotarod bazal (sn)	Rotarod son (sn)	p
Salin	240±0	240±0	1.00
GLP-1 (0.2mg/kg)	221.50±36.80	240±0	0.180
GLP-2 (0.05mg/kg)	179.20±56.73	216.40±42.48	0.109

GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) uygulanan farelerin rotarod egzersizi sonrasında kan şekeri ölçümlerinin ilaç öncesi ve ilaç sonrası değerlerinin salin grubuna göre karşılaştırılmasında; salin ve GLP-2 sonrası kan şekeri değerlerinde anlamlı artış gözlenirken, GLP-1 sonrası kan şekeri yüksekliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 27).

Tablo 27. GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.5 mg/kg) Uygulanan Farelerin Rotarod Egzersizi Sonrasında Kan Şekeri Ölçümlerinin İlaç Öncesi Ve İlaç Sonrası Değerlerinin Salin Grubuna Göre Karşılaştırılması

	Glukoz bazal (mg/dl)	Glukoz son (mg/dl)	P
Salin	128.6±18.94	160.20±24.56	0.043
GLP-1 (0.2mg/kg)	121.50±24.29	139.33±30.06	0.116
GLP-2 (0.05mg/kg)	148.40±15.82	192.80±59.89	0.043

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg)'nin farelerde ağrı üzerine etkilerini hot plate testi, inflamasyon üzerine etkilerini formalin testi kullanarak araştırdık.

GLP-1 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerleri; 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda salin grubu ile karşılaştırıldığında; GLP-1 0.05 mg/kg dozu 10. dakikada nosisepsiyon yönünde, 0,2 mg/kg dozu 30. dakikada antinosisepsiyon yönünde istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

GLP-1'in antinosiseptif etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda, Gong ve arkadaşları (2014), GLP-1R'nin ağrı hipersensitivitesindeki inhibitör rolü incelendiğinde; GLP-1R'nin özellikle spinal dorsal boynuzdaki mikroglia hücrelerinde bulunduğunu, periferik sinir hasarı sonrasında mikroglial proliferasyon ve hipertrofiyle GLP-1R upregüle olduğunu, GLP-1 (7-36) ve eksenatid'in formalin testinde tonik fazda doza bağımlı olarak pençe yalama sayılarını azalttığını, GLP-1'in spinal β endorfin salımını artırarak opioidergik yolakla antinosiseptif etki yaptığını (nalokson ve minosiklin ile bu antinosisepsiyonun engellendiğini), yani spinal dorsal boynuzda GLP-1R/ β endorfin ilişkili ağrı inhibisyonu yolağının bulunduğunu belirtmektedir (55). Jia ve arkadaşları (2015) GLP-1'in mikroglial hücrelerde β -endorfin ekspresyonuna yol açarak nöronları koruduğunu ve antinosisepsiyon oluşturduğunu saptamışlardır (56).

Komsuoğlu I ve arkadaşları (2014), tip 2 DM oluşturulmuş farelerde hot plate testinde farelerin ağrıya yanıt verme süresini ölçmüş, tip 2 DM'li farelerde ağrıya yanıt verme süresinin uzadığını saptamış ve bunun diyabetik nöropatiye bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Eksenatid tedavisi sonrası ise bu durumun tersine döndüğünü göstererek, GLP-1'in diyabetik nöropatide oluşabilecek komplikasyonları önlemede önemli bir hedef molekül olabileceğini bildirmişlerdir (85). Fan H ve arkadaşları (2015) yaptıkları çalışmada ise, GLP-1R agonisti olan WB4-24'ün spinal mikroglialdan β -endorfin salımını stimüle ederek nosisepsiyonu bloke ettiğini göstermişlerdir (57).

GLP-1'in inflamasyon üzerine etkilerini incelediğimiz formalin testinde, GLP-1 0,1 mg/kg dozunun pençe sallama sayısını 20-40. dakikalar arasında; 0,2

mg/kg dozunun ise pençe yalama ve sallama sayılarını tüm zaman aralıklarında saline göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde azalttığını bulduk. Farelerin pençe çaplarının ölçümünde ise salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık bulamadık.

Gumuslu ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, GLP-1R agonisti olan eksenatid'in 0.1 µg/kg dozunda 14 günlük uygulama sonucunda streptozosin/nikotinamid'le indüklenen diyabetik farelerde, normalde proinflamatuvar uyarıyla sentezleri dramatik olarak artan hücre adezyon molekülleri olan hipokampal nöral hücre adezyon molekülü (NCAM), interselüler hücre adezyon molekülü (ICAM) ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) protein ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını göstermişlerdir (86).

Tip 2 DM tedavisinde kullanılan GLP-1, glukoz seviyesinin regülasyonunun yanında; antiapoptotik, antioksidatif ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde nöronal ve kardiyovasküler koruma özelliği olan bir hormondur (87-88). Yapılan çalışmalarda, GLP-1'in proinflamatuvar sitokinler olan C-X-C motif kemokin ligand-10 (CXCL-10), sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü-3 (STAT-3), monosit kemoatraktan protein-1 (Mcp-1) ve TNF-α ekspresyonunu azalttığı, NFκB aktivasyonunu inhibe ettiği, böylelikle doğal öldürücü (naturel killer) hücrelerin pankreas, merkezi sinir sistemi ve sindirim sistemindeki aktivitelerini azalttığı gösterilmiştir (89-93). LPS ile indüklenmiş inflamasyon modellerinde, GLP-1 uygulamasının IL-6, COX-2, iNOS, NF-κB mRNA, TNF-α ve IL-1β protein ekspresyonlarında azalma yaptığı belirtilmektedir (94).

Ripken D ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada, gıda alımını takiben enteroendokrin hücrelerdeki G-protein reseptörlerindeki etkileşim sonucu serotoninin GLP-1 salıverilmesini artırdığını göstermişlerdir (95). Serotonin, santral sinir sisteminde inisiyatif inhibitör ağrı yollarını modüle etmede önemli bir nöromediyatördür. Serotonin, primer aferent sinir uçlarını 5-HT₃ reseptörü aracılığıyla stimüle eder (69). Omurilik düzeyinde salıverilen serotoninin analjezik etkisine 5-HT_{1B/D} ve 5-HT₃ reseptörler aracılık eder. Ancak serotoninin omurilik düzeyinde bir anti-analjezik etkisi de vardır; bu, 5-HT_{1A} reseptörler aracılığı ile nosiseptif reflekslerin uyarılmasına bağlıdır (70). Avila-Rojas ve arkadaşları (2015) yaptıkları çalışmada, 5-HT_{1A} reseptörünün antiallodinik etkileri olduğunu, öte

yandan spinal 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₆ ve 5-HT₇ reseptörlerinin ise pronosiseptif etkili olduğunu belirtmişlerdir (96). 5-HT'nin yapılan çalışmalarda, nöropatik ağrı ve diğer persistan ağrı durumlarında analjezik etkili olabileceği gösterilmiştir (97). İlkaya ve arkadaşları (2015) imipraminin antinosiseptif etkisinin, kolorektal distansiyon yoluyla visseral ağrı oluşturulmuş modelde araştırılmasında 5-HT₂ ve 5-HT₄ blokajının antinosiseptif etkide artış yaptığı belirtilmektedir (98). Loyd ve arkadaşları, 5-HT'nin hiperaljeziyi artırdığını, ketanserin ve granisetron gibi 5-HT reseptör antagonistlerinin bu etkiyi azalttığını bildirmişlerdir (99).

Farkas I ve arkadaşları (2016), NO yolağı ve GLP-1'in üreme fonksiyonlarını düzenlemesine yönelik yaptıkları çalışmalarında, GLP-1'in NO aktivasyonunu artırdığını saptamışlardır. Ayrıca, NO'ü L-NAME ile bloke ettiklerinde, GLP-1 agonisti olan eksendin-4'ün eksitatör etkisinin azaldığını göstermişlerdir (100). Özbek ve arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmada ise, NOS inhibitörü L-NA uygulanması sonucu NO sentezinin azalmasının, periferik yoldan uygulanan morfinin analjezik etkisini artırdığını saptamışlardır (77).

Kawabata A ve arkadaşları (1994) çalışmalarında, farelere intraplantar yolla uyguladıkları L-arjinin ve L-NAME sonrasında, formalin bağımlı nosisepsiyonda NO'nun doku seviyesine bağılı olarak, nosiseptif ve antinosiseptif olmak üzere iki yönlü etkisinin olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında, fare pençesine uyguladıkları formalinin ikinci fazında (10-30. dakikalar arasında) olasılıkla bölgesel olarak NOS'u aktive etmesiyle NO düzeyini artırdığını ve bu etkinin nosiseptif cevaba yol açtığını belirtmektedirler. Çalışmalarındaki bulgularına göre, intraplantar uygulanan L-NAME önce NOS'u inhibe etmekte, sonra formaline bağılı NO artışını inhibe etmektedir. Böylece nosisepsiyonu baskılayarak hipoaljezi yapmaktadır. İntraplantar uygulanan L-Arginin'in düşük dozlarda formaline bağılı NO artışını indükleyerek hiperaljeziye yol açtığını belirtmektedirler. L-Arginin'in yüksek dozlarda doku NO düzeylerini daha artırdığını, ancak olasılıkla nosiseptörler üzerinde supresif etkiye yol açarak hipoaljeziye neden olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak periferik NO'nun faredeki formalin testinde nosiseptif modülasyonda nosiseptif ve antinosiseptif olmak üzere ikili rol oynadığı bu bulgulara dayandırılarak açıklanmıştır (78).

NO ile ilgili bir başka çalışmada, inflamasyon ve hasara yanıt olarak ağrı oluşmasında önemli rol oynadığı, intratekal L-Arginin verilmesinin hiperaljeziyi indüklediği, intratekal NOS inhibitörlerinin ise hiperaljezi ve nöropatik ağrıyı bloke ettiği belirtilmektedir. Çalışmalarındaki sonuçlara göre, NO'nun santral spinal kord nöronlarında ağrı iletimi mekanizması esas olarak cGMP sinyal yolağına bağlıdır. TRP kanallarının periferde eksprese edilen polimodal nosisensörlerinden olan TRPV1 ve TRPA1, NO tarafından aktive edilmektedir. Bunlar, ağrıda NO-bağımlı periferik sensitizasyonda rol alır. Yani NO, dorsal kök ganglionlarını TRPA1 and TRPV1 aktivasyonu ile stimüle etmektedir (101). Aksine, NO; ATP-duyarlı K^+ kanallarını aktive ve voltaj bağımlı Na kanallarını inhibe eder (102). Bunlar NO'nun antinosisepsiyonla ilişkili olduğu durumlardır.

Çalışmamızda, yukardaki çalışmalar doğrultusunda GLP-1'in serotonerjik, nitreerjik ve opioidderjik sistemle ilişkisi olabileceğini düşünerek, GLP-1'in nosisepsiyon ve inflamasyon üzerine olan etkilerinde bu üç sistemin etkilerini gözlemlemek amacıyla ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg) ve nalokson (5 mg/kg) kullanarak bu yolları antagonize etmeye çalıştık.

GLP-1 (0.2 mg/kg)'in hot plate testinde gözlemlediğimiz antinosisseptif etkisinin 15. dakikada L-NAME varlığında, 30. dakikada ise ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg) ve nalokson (5 mg/kg) varlığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını gördük. GLP-1 (0.2 mg/kg)'in ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg) ve nalokson (5 mg/kg) varlığında antiinflamatuvar etkilerini incelediğimiz formalin testinde ise nalokson (5 mg/kg) varlığında akut fazda pençe sallama hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptadık.

Yani GLP-1 ile ilgili yaptığımız deneylerde; GLP-1'in hot plate testinde gözlemlediğimiz antinosisseptif etkisinin; 30. dakikada opioid blokörüyle azaldığını, GLP-1'in formalin testinde gözlemlediğimiz pençe hareketlerinin akut fazda opioid blokörüyle arttığını saptadık. Bu durumda GLP-1 antinosisseptif ve antiinflamasyon etkisinin opioidderjik yolak üzerinden olabileceği izlenimi edindik. GLP-1'in hot plate testinde gözlemlediğimiz antinosisseptif etkisinin; 15 ve 30. dakikada NO inhibisyonu ile azaldığını, GLP-1'in formalin testinde gözlemlediğimiz pençe hareketlerinin NO blokörüyle değişmediğini, yani NO yolağını kullanmadığını gördük. GLP-1'in NO üzerinden verdiği cevap, hot plate testinde ve formalin

testinde farklı çıktı. GLP-1'in hot plate testinde gözlemediğimiz antinosiseptif etkisinin; 30. dakikada 5-HT3 inhibisyonuyla azaldığını, GLP-1'in formalin testinde gözlemediğimiz antiinflamatuvar etkisinin; 5-HT3 inhibisyonuyla değişmediğini saptadık. GLP-1'in antiinflamatuvar etkisinde 5-HT3'ün etkili olmadığını, yine GLP-1'in 5-HT3 reseptörü üzerinden verdiği cevabın hot plate testinde ve formalin testinde farklı çıktığını bulduk.

GLP-2 (0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg) uygulanan farelerin % MPE değerleri; 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda salin grubu ile karşılaştırıldığında; GLP-2'nin uygulanan tüm dozlarında % MPE değerlerinde antinosiseptif etki anlamında bir artış görülmesine rağmen, bu artış GLP-2 (0.2 mg/kg) dozunda istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

GLP-2'nin antiinflamatuvar etkilerini araştırmak için farelerde yapmış olduğumuz formalin testinde ise, GLP-2 (0.05 mg/kg) dozunda pençe sallama sayısını tüm zaman aralıklarında, GLP-2 (0.1 mg/kg) dozunda pençe yalama sayısını 0-5. dakikalar arası hariç tüm zaman aralıklarında, GLP-2 (0,2 mg/kg) dozunda yalama ve sallama sayılarını tüm zaman aralıklarında saline göre istatistiksel anlamlı olarak azalttığını bulduk. Pençe çaplarında ise saline göre anlamlı bir azalma olmadığını gözlemledik.

Xie S ve arkadaşları (2014) yılında yaptıkları çalışmada, LPS ile oluşturulmuş inflamasyon modelinde çalışılan GLP-2'nin i-NOS ve COX-2 enzim sentezini, TNF- α , IL-1 β ve IL-6'nın protein ve mRNA sentezini makrofajlarda azalttığını göstermişlerdir (103).

Yapılan histopatolojik çalışmalarda, GLP-2'nin intestinal inflamasyonda azalma sağladığı, kolitli hayvalarda kript hücre apoptozisini azalttığı, GLP-2 uygulanan kolitli hayvanların lamina propriasının floresan-aktif hücre analizinde CD4 T hücre sayısında azalma, CD11b/F4/80 makrofajlarda artış izlendiği, ayrıca lamina propriadaki makrofajlarda TNF- α üretiminde azalma ve IGF-1 üretimine artış olduğu bildirilmiştir (104). Sigalet DL ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında, GLP-2'nin antiinflamatuvar etkilerinin enterik nöral yollar aracılığıyla gerçekleştiğini, GLP-2'nin, sitokin sinyal baskılayıcıları yolağının (SOCS-3/physiological suppressors of cytokine signaling) aktivasyonu, IL-10 ve IL-6 aracılı

STAT-3 sinyal yolağının inhibisyonuyla bağırsakta antiinflamatuvar etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir (105).

Li N ve arkadaşlarının (2016) yaptıkları çalışmada GLP-2 uygulamasının beyin dokusunda LPS ile indüklenen i-NOS, COX-2, IL1- β , IL6, TNF- α üretiminde azalma sağladığını, ayrıca GLP-2'nin, LPS ile indüklenen ekstrasellüler sinyal ilişkili kinaz (ERK1/2), jun N-terminal kinaz (JNK1/2) ve p65 fosforilasyonunu azalttığını ve mikroglia aracılı sinir hasarını azalttığını göstermişlerdir (106).

Çalışmamızda GLP-2 (0.05 mg/kg) dozunun ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığındaki antinosisseptif etkilerinin araştırılmasında; 30. dakikada ondansetron ve nalokson varlığında antinosisseptif etkide salin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluştuğunu gözlemledik.

Iwai T ve arkadaşları (2015) yaptıkları çalışmalarında, ACTH verilmiş farelerin amigdalasında GLP-2'nin 5-HT'yi artırdığını, 5-HT'nin ortamda bulunmaması durumunda ise GLP-2'nin anksiyolitik etkilerinin oluşmadığını saptamışlardır (107). Yine aynı araştırmacıların yapmış oldukları bir başka çalışmada ise, trisiklik antidepresanlara dirençli depresyon modeli oluşturulmuş farelerde, GLP-2'nin 5-HT düzeyini artırdığını ve bu yolla antidepresan etkisi olduğunu bildirmişlerdir (108).

Hsieh J ve arkadaşları (2015) çalışmalarında, GLP-2'nin şilomikron üretimindeki uyarıcı etkilerinde NO'nun rolünün olduğunu, L-NAME'nin GLP-2 tarafından stimüle edilen apo B48 sekresyonunu bloke ettiğini saptamışlardır (109). Öte yandan Gulec Suyen K ve arkadaşları (2015), gastrik mukozal kan akımında artış sağlayan GLP-2'nin kalsitonin gen ilişkili peptit ve endojen prostaglandinler üzerinden bu etkiyi gerçekleştirdiğini, NO'nun bu etkide rol almadığını belirtmişlerdir (54).

GLP-2 (0.05 mg/kg) dozunun formalin testinde antiinflamatuvar etkisinin ondansetron (0.1 mg/kg), L-NAME (10 mg/kg), nalokson (5 mg/kg) varlığında araştırılmasında; 0-5. dakikalar ve 20-40. dakikalar arasında pençe yalama sayılarının L-NAME varlığında, 20-40. dakikalarda pençe sallama sayılarının ondansetron ve L-NAME varlığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığını gözlemledik.

Yani GLP-2'nin hot plate testinde gözlemediğimiz antinosiseptif etkisinin; 30. dakikada ondansetron ve nalokson varlığında azaldığını, GLP-2'nin formalin testinde akut ve tonik fazda pençe yalama sayılarının L-NAME varlığında, tonik fazda pençe sallama sayılarının ondansetron ve L-NAME varlığında azaldığını gözlemedik.

GLP-2'nin hot plate testinde gözlemediğimiz antinosiseptif etkisinin; 30. dakikada 5-HT3 blokajı ve opioid reseptör blokajı ile azalması, antinosiseptif etkiyi 5-HT3 serotonerjik veya opioidderjik yolakla yapabilir izlenimi vermiştir.

Yapılmış çalışmalarda 5-HT2 ve 5-HT4 blokajının antinosiseptif etkiler göstermesine rağmen (110), aynı nosisepsiyon modeli olan bir başka çalışmada 5-HT4 blokajının antinosiseptif etkiyi antagonize ettiği saptanmıştır (110,111). Ek olarak ketanserin ve ondansetronun tek başına anlamlı olarak antinosiseptif etki yapmadığı belirtilmektedir. Aksine, 5-HT2 ve 5-HT3 reseptör antagonistleri (ketanserin ve ondansetron dahil) kimyasal ve distansiyon bağlı ağrı modellerinde antinosiseptif etki göstermiştir (112,113). Bu farklılıklar, farklı ağrı modellerinden kaynaklanıyor olabilir. Ancak GLP-2'nin formalin testinde gözlediğimiz pençe hareketlerinin; tonik fazda 5-HT3 reseptörü bloke edildiğinde veya NO yolağı bloke edildiğinde azalması, bizi formalin testinde serotonerjik ve NO yolağının etkisinin net olmadığı kanısına vardırıştır.

Biz bu çalışmada, GLP-1'in formalin testindeki etkilerinde akut fazda 0.2 mg/kg dozunda, tonik fazda ise daha düşük dozda da (0.1 mg/kg) antiinflamatuvar etkili olduğunu gözledik. GLP-2'nin formalin testindeki etkilerinde ise akut ve tonik fazların her ikisinde de anlamlı antiinflamatuvar etkisi olduğunu saptadık. GLP-1 ve GLP-2'de hot plate testinde ise 30. dakikada antinosiseptif etkili olduklarını gözlemedik.

Çalışmamızda, GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg)'ın farelere 14 gün süreyle uygulama sonrasında antinosiseptif etkilerinin hot plate testinde araştırılmasında; her iki ilacın uygulandıktan sonraki 10., 15. ve 30. dakikalarda antinosiseptif etkilerde istatistiksel olarak salin grubuna göre anlamlı bir artış oluşturduğu görüldü.

GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg)'ın farelere 14 gün süreyle uygulama sonrasında antiinflamatuvar etkilerinin araştırılmasında farelerin tüm zaman

aralıklarında pençe yalama ve sallama sayılarının saline göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı (GLP-2 0,05 mg/kg dozunda 20-40. dakikalar arasındaki sallama sayısı hariç) görülürken, 40. dakikada farelerin pençe çaplarının ölçümünde ise salin grubuna göre istatistiksel olarak bir anlamlılık gözlemlenmedi.

GLP-1 ve GLP-2, DPP-4 ile hızlı yıkılmaları nedeniyle, yarı ömürleri GLP-1 için 2 dakika ve GLP-2 için birkaç dakika olarak bilinmektedir. Yani dolaşımdaki endojen GLP-1 ve GLP-2 düzeyi çok düşüktür. Ancak, GLP-1'in etkileri haftalar sonrasında görülebilmektedir. Yarı ömürlerinin kısa olmasının, uzun dönemdeki yararlı etkilerini yansıtmadığına dair yapılmış olan çalışmalar mevcuttur. Hui ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, GLP-1'in subkutan uygulama sonrasında bile pik konsantrasyonu 90 dakika sonra normale döndüğü belirtilmektedir. Yaptıkları çalışmada, eksojen GLP-1 uygulamasının akut fazı ilk dakikalara denk gelmektedir. Bu dönem, glukoz bağımlı insülinomimetik etkinin cAMP/PKA yoluyla ile ATP bağımlı K kanallarının kapanması, β hücre depolarizasyonu, voltaj bağımlı Ca kanallarının açılması ve insülin sekresyonu olan fazdır. GLP-1 ilk saatlerde β hücreye özgül genler (insülin, GLUT-2, glukokinaz) aktivasyonu yapmaktadır. Ayrıca SSS etkilerinin bu dönemde olduğu bildirilmektedir. GLP-1 günler sonra β hücre kitlesinin artışına neden olur (114). Kısa yarı ömre sahip olan GLP moleküllerinin uzun etkili sonuçlar verdiği diğer çalışmalara bakıldığında; Güleç ve arkadaşları tarafından (2015) GLP-2'nin mide mukozal kan akımına yönelik etkilerinin incelendiği bir çalışmada, GLP-2 uygulandıktan sonra 35 dakika boyunca 5'er dakika aralıklı kan akımı izlenmiş, gastrik kan akımını artırıcı etkisinin 15. dakikada maksimuma ulaştığı, sonra düşmesine rağmen bazal değerlerden anlamlı olarak yüksek devam ettiği saptanmıştır (54). Bir başka çalışmada GLP-2'nin antidepresan etkilerini araştırmak için deney protokolünde yer alan zorlu yüzme testi uygulamasından 30 dakika önce GLP-2 verildiği, bu süreçte GLP-2'nin zorlu yüzme testi immobilizasyon süresini azalttığı bildirilmiştir (115).

Çalışmamızda, GLP-1 (0.2 mg/kg) ve GLP-2 (0,05 mg/kg)'ın antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinde lökomotor aktivite ve kan şekeri düzeylerindeki değişimlerin olası katkılarının incelenmesi için rotarod testi ve kan şekeri ölçüm kontrolleri yaptık. Bu sonuçlara göre; salin - GLP-1 - GLP-2 gruplarının her üçünde de rotarod testinde lökomotor aktivite değişimleri ilaç öncesi ve sonrası değerleri

arasında anlamlı fark bulunmadı. Iwai ve arkadaşları, GLP-2'nin antidepresan etkilerini inceledikleri zorlu yüzme testinde, GLP-2'nin immobilizasyon zamanını azalttığını, bunu yaparken lökomotor aktiviteyi değiştirmediğini belirtmektedirler (115).

Kan şekeri ölçümlerinde salin ve GLP-2'de egzersiz ve ilaç sonrası kan şekeri düzeyleri, ilaç öncesine göre anlamlı olarak arttı; GLP-1'de ise anlamlı değişim bulunmadı. Kan şekerinin egzersiz sırasında artışı, egzersiz esnasında vücudun artan metabolik ihtiyaçlarını karşılanması için hepatik glukojen yıkımı neticesinde kana depo glikoz salınmasından kaynaklanmaktadır. GLP-1'in bu deneyde hipoglisemik etki göstermemesi ise, GLP-1'in hipoglisemik etkisinin sadece yüksek kan şekerli patolojik durumlarda kan şekerini düşürmesine bağlanmaktadır. Palleria ve arkadaşları (2017) çalışmalarında, rotarod öncesi ve sonrası liraglutide (GLP-1 analogu) uygulanan normal farelerde kan şekerine etkisinin anlamsız bulunduğu belirtmektedirler (116).

GLP-2'nin klinikte en sık kullanıldığı kısa bağırsak sendromu ile ilgili çalışmaların yanı sıra, intestinal epitelyum yüzeyini genişletmesi ve hücre çoğalmasıyla ilgili olarak yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (67,68). Bu çalışmalar, GLP-2R sinyal yolaklarının moleküler temelinde glukagon ve GLP-1'de olduğu gibi cAMP ve AP-1 bağımlı sinyal yolaklarının aktivasyonu olduğunu belirtmektedir. GLP-2'nin uyardığı cAMP artışı, PKA ve AP-1 dışında diğer yolakların aktivasyonu ile de, hızlı sentezlenen öncül gen aktivasyonu ve hücre çoğalmasına neden olmaktadır. GLP-2'nin aktive ettiği bir diğer yolağın P70 S6 kinaz olduğu gösterilmiştir. GLP-2'nin apoptozdaki inhibitör etkisinin ve epitelyal hücre çoğalmasını sağlamasının temelinde bu yolağın olduğu düşünölmektedir (67).

GLP-2 ile ilgili olarak yapılmış çeşitli çalışmalarda; GLP-2'nin GIS fonksiyonlarındaki etkileri enterik nöral sistem aracılı motilite düzenlenmesi, NO salımını artırarak ince barsak relaksasyonu, VIP aracılı gastrik gevşeme yaptığı, vagal afferent nöronlar aracılığıyla gıda alım inhibisyonu, gastrik boşalmayı geciktirmesi ve hepatik glukoz uptake inhibisyonuna POMK aracılığıyla yol açması şeklinde sıralanabilir. İnflamasyon ve hücre proliferasyonundaki etkileri; enterik nöral sistem mukozal inflamasyonda VIP aracılı restorasyon yapması, diğer sahalarda plazma proinflamatuvar sitokinleri, doku oksidatif stres belirteçleri ve

makrofaj inflamasyonunu azaltması, bunu MAPK inhibisyonu (ERK1/2, JNK), PI3K γ ve Akt fosforilasyonları yaparak gerçekleştirmesi, birden fazla apoptotik yolak kullanması özellikle Caspase-3 ve protein kinaz A ilişkili Caspase 8 ve 9 aktivitesi inhibisyonuna yol açması, IGF-1, KGF, TGF β seviyelerini yükseltmesi, TNF α , IFN γ seviyelerini azaltması olarak belirtilmektedir. GLP-2R sinyal aktivasyonu sonucu hücre içi cAMP seviyesinde artış, cAMP-bağımlı PKA aktivasyonu, AP-1 bağımlı transkripsiyon ve hızlı sentezlenen öncül genlerin ekspresyonunda artışa yol açtığı bilinmektedir.

Çalışmamızda birtakım kısıtlılıklarımız mevcuttur. Öncelikle, biz bu çalışmada moleküler teknikleri kullanmadık. Bu nedenle GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinin hangi reseptörler üzerinden olduğunu gösteremedik. Antiinflamatuvar etki gözlemlendiğimiz deneylerde 40.dakikada pençe ölçümlerinde farklılık göremedik. Bu durum pençe farkını ölçmekte kullandığımız yöntem olan kumpastan ileri geliyor olabilir. Pençe ölçümünü milimetre birimiyle veren kumpas yerine, pençe hacmini mililitre olarak ölçen pletismometre kullanmamız durumunda, pençe ödemi hacim cinsinden daha net saptayabilirdik. Yarı ömrü kısa olmasından dolayı sık aralıklı protokol uyguladık. Bu durumda öğrenme faktörünü ekarte edemeyebiliriz. Salin gruplarını ise bağımsız hayvanlarda bireysel ve tek dozlu olarak yaptık. Yani deneyin her bir protokolü için ayrı hayvan kullanılması durumunda öğrenme faktörü tümünden saf dışı bırakılabilirdi.

Çalışmamızda GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkileri görüldü. GLP-1 ve GLP-2'nin serotonerjik, nitreerjik ve opioiderjik yolaklar üzerine olan etkilerinde bulduğumuz farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Şöyle ki: GLP-1 antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkisindeki ortak noktanın opioiderjik yolak üzerinden olabileceği izlenimi mevcuttur. GLP-1'in NO ve 5-HT3 reseptörü üzerinden verdiği cevap, hot plate testinde ve formalin testinde farklı çıkmıştır. GLP-2 antinosiseptif etkiyi 5-HT3 serotonerjik veya opioiderjik yolakla yapabilir izlenimi olmasına rağmen, antiinflamatuvar etkisinde 5-HT3, NO ve opioid yolağının etkisinin yine net olmadığı saptanmıştır.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerini hot plate ve formalin testinde araştırdık ve bu etkilerin mekanizmasında serotonerjik, nitreerjik ve opioiderjik sistemlerin rolünün olup olmadığını göstermeye çalıştık.

1. GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinin olabileceğini gördük.
2. Bu etkilerinin mekanizmasının araştırılması yönünde yaptığımız deneylerde ise, GLP-1 ve GLP-2'nin serotonerjik, nitreerjik ve opioiderjik yollar üzerine olan etkisi ile ilgili bulduğumuz farklı sonuçlar mevcuttur.
3. Bu bağlamda çalışmamızın devamı olarak, GLP-1 ve GLP-2'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkilerinde PKA bağımlı protein ekspresyonunu moleküler düzeyde araştırmayı, serotonerjik, nitreerjik ve opioiderjik yollar üzerine olan etkilerinde bulduğumuz farklı sonuçlara moleküler düzeyde açıklık getirmeyi hedeflemekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Merskey H, Bogduk N. Classification of Chronic Pain. 2nd ed. IASP Press, Seattle 1994.
2. Tunçtan B. İnflamasyon ve Ağrı. Türk Farmakoloji Derneği XXII. Eğitim Toplantısı; 29 Mayıs 2015; Adana, Türkiye. s.3.
3. Institute for Clinical Systems Improvement. Health care guideline: Assessment and management of chronic pain. Fourth edition November 2009.
4. Bennett M. The LANSS Pain Scale: the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs. Pain. 2001;92(1-2):147-57.
5. Stanton-Hicks M, Jänig W, Hassenbusch S, Haddock JD, Boas R, Wilson P. Reflex sympathetic dystrophy: changing concepts and taxonomy. Pain. 1995;63(1):127-33.
6. Adler RH. The term "chronic" with respect to pain should be dropped. Clin J Pain. 2000;16(4):365.
7. Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. Pain Suppl 1986; 3:1.
8. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, Tugwell P, Campbell SM, Abeles M, Clark P. The American College of Rheumatology 1990 Criteria for the Classification of Fibromyalgia. Report of the Multicenter Criteria Committee. Arthritis Rheum 1990; 33:160.
9. America Psychiatric Association (APA). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV), 4th ed, America Psychiatric Association, Washington 1994.
10. Rosenquist E. Definition and pathogenesis of chronic pain. [Internet]. [son güncelleme:09.06.2015;10.09.2016 tarihinde erişildi]. http://www.uptodate.com/contents/definition-and-pathogenesis-of-chronic-pain?source=search_result&search=chronic+pain&selectedTitle=2%7E150#H1732188. 2016.
11. Erdine S. Ağrı ve Akılcı Analjezik Kullanımı. 2. Basım. Ankara: TEB ve Sanovel İlaç; 1999: s.1-8.
12. Tüzüner F. Akut Ağrı Mekanizmaları. 1999; 11(4): 39-45.
13. Sorkin LS, Wallace MS. Acute pain mechanisms. Surgical Clinics of North America, 1999, 79(2):213-217.
14. Fields HL. Pain, McGraw-Hill Information Services Company, New York 1987.

15. Waxman SG. Neurobiology: a channel sets the gain on pain. *Nature* 2006; 444:831.
16. Reimann F, Cox JJ, Belfer I, et al. Pain perception is altered by a nucleotide polymorphism in SCN9A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107:5148.
17. Woolf CJ, American College of Physicians, American Physiological Society. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 2004; 140:441.
18. Kunimoto M. [The peripheral mechanism of physiological pain]. *Brain Nerve*.2012 Nov;64(11):1205-14. Review.
19. Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.826-828.
20. Özyalçın SN, Koltka K, Uyar M. Akut ağrı genel bilgiler. Özyalçın SN, editör. Ankara: Günes Kitapevi; 2005. s.1-24.
21. Rexed B.A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol* 1954;100:297-379.
22. Ertekin C. Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. Yegül D, editör. İzmir: Yapım Matbaacılık; 2003. s. 1-13.
23. Aydın ON. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002;3(2):37-48.
24. Özyalçın SN, Koltka K, Uyar M. Akut ağrı genel bilgiler. Özyalçın SN, editör. Ankara: Günes Kitapevi; 2005. s.1-24.
25. Önal A. Ağrı. Önal A, editör. Algoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2004. s.1-20.
26. Melzack R. From the gate to the neuromatrix. *Pain*. 1999 Aug; Suppl 6:S121-6. Review.
27. Erdine S. Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım. Erdine S, editör. 3.Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2007. s.37-48.
28. Woolf CJ, American College of Physicians, American Physiological Society. Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med*. 2004; 140:441.
29. Kubilay Ükinç, Alper Gürlek, Aydan Usman. Yeni antidiabetik ilaçlar. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2007; 38:113-120.
30. Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ Jr, Rai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab*. 1964; 24:1076-82.

31. Brown JC, Mutt V, Pederson RA. Further purification of a polypeptide demonstrating enterogastrone activity. *J Physiol.* 1970; 209:57-64.
32. Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973; 37:826-8.
33. Elahi D, Andersen DK, Brown JC, et al. Pancreatic alpha and beta-cell responses to GIP infusion in normal man. *Am J Physiol.* 1979; 237:185-91.
34. Andersen DK, Elahi D, Brown JC, Tobin JD, Andres R. Oral glucose augmentation of insulin secretion. Interactions of gastric inhibitory polypeptide with ambient glucose and insulin levels. *J Clin Invest.* 1978; 62:152-61.
35. Brown JC. Gastric inhibitory polypeptide. *Monogr Endocrinol.* 1982; 24:3-88.
36. Maxwell V, Shulkes A, Brown JC, Solomon TE, Walsh JH, Grossman MI. Effect of gastric inhibitory polypeptide on pentagastrin-stimulated acid secretion in man. *Dig Dis Sci.* 1980; 25:113-6.
37. Creutzfeldt W. The incretin concept today. *Diabetologia* 1979; 16:75-85.
38. Lauritsen KB, Moody AJ, Christensen KC, Lindkaer JS. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin release after small-bowel resection in man. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15:833-40.
39. Novak U, Wilks A, Buell G, McEwen S. Identical mRNA for proglucagon in pancreas and gut. *Eur J Biochem.* 1987; 164:553-8.
40. Mojsov S, Heinrich G, Wilson IB, Ravazzola M, Orci L, Habener JF. Proglucagon gene expression in pancreas and intestine diversifies at the level of post-translational processing. *J Biol Chem.* 1986; 261:11880-9.
41. Orskov C, Holst JJ, Knuhtsen S, Baldissera FG, Poulsen SS, Nielsen OV. Glucagon-like peptides GLP-1 and GLP-2, predicted products of the glucagon gene, are secreted separately from pig small intestine but not pancreas. *Endocrinology.* 1986; 119:1467-75.
42. Orskov C, Holst JJ, Poulsen SS, Kirkegaard P. Pancreatic and intestinal processing of proglucagon in man. *Diabetologia.* 1987; 30:874-81.
43. Barnett A. DPP-4 inhibitors and their potential role in the management of type 2 diabetes. *Int J Clin Pract.* 2006; 60:1454-70.
44. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet.* 2006; 368:1696-705.
45. Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia.* 1986; 29:46-52.

46. Elahi D, oon-Dyke M, Fukagawa NK, et al. The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects. *Regul Pept.* 1994; 51:63-74.
47. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91:301-7.
48. Rachman J, Barrow BA, Levy JC, Turner RC. Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40:205-11.
49. Burrin DG, Stoll B, Guan X. Glucagon-like peptide 2 function in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 2003;24(2):103-22.
50. Baldassano S, Amato A. GLP-2: What do we know? What are we going to discover? *Regul Pept.* 2014;194-195:6-10.
51. Rocha FG, Shen KR, Jasleen J, Tavakkolizadeh A, Zinner MJ, Whang EE, Ashley SW. Glucagon-like peptide-2: divergent signaling pathways. *J Surg Res.* 2004;121(1):5-12.
52. Lewis RJ, Garcia ML. Therapeutic potential of venom peptides. *Nature reviews. Drug discovery.* 2003;2:790-802.
53. From bites and stings to medicines [Internet]. 2016 [09.09.2016 tarihinde erişildi]. http://www.chemsoc.org/chembytes/ezine/1999/berressem_apr99.htm
54. Gulec Suyen G, Isbil-Buyukcoskun N, Cam B, Ozluk K. Effects of centrally injected glucagon-like peptide-2 on gastric mucosal blood flow in rats: possible mechanisms. *Peptides.* 2015;64:62-6.
55. Gong N, Xiao Q, Zhu B, Zhang CY, Wang YC, Fan H, Ma AN, Wang YX. Activation of spinal glucagon-like peptide-1 receptors specifically suppresses pain hypersensitivity. *J Neurosci.* 2014;34(15):5322-34.
56. Gong N, Fan H, Ma AN, Xiao Q, Wang YX. Geniposide and its iridoid analogs exhibit antinociception by acting at the spinal GLP-1 receptors. *Neuropharmacology.* 2014;84:31-45.
57. Fan H, Gong N, Li TF, Ma AN, Wu XY, Wang MW, Wang YX. The non-peptide GLP-1 receptor agonist WB4-24 blocks inflammatory nociception by stimulating β -endorphin release from spinal microglia. *Br J Pharmacol.* 2015;172(1):64-79.
58. Iwai T, Sawabe T, Tanimitsu K, Suzuki M, Sasaki-Hamada S, Oka J. Glucagon-like peptide-1 protects synaptic and learning functions from neuroinflammation in rodents. *J Neurosci Res.* 2014;92(4):446-54.

59. Palalau AI, Tahrani AA, Piya MK, Barnett AH. DPP-4 inhibitors in clinical practice. *Postgrad Med.* 2009; 121(6):70-100.
60. Brubaker PL, Drucker DJ. Glucagon-like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology.* 2004;145(6):2653-9.
61. Rowland KJ, Brubaker PL. The "cryptic" mechanism of action of glucagon-like peptide-2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011;301(1):1-8.
62. Iwai T, Hayashi Y, Narita S, Kasuya Y, Jin K, Tsugane M, Oka J. Antidepressant-like effects of glucagon-like peptide-2 in mice occur via monoamine pathways. *Behav Brain Res.* 2009;204(1):235-40.
63. Bulut K, Pennartz C, Felderbauer P, Meier JJ, Banasch M, Bulut D, Schmitz F, Schmidt WE, Hoffmann P. Glucagon like peptide-2 induces intestinal restitution through VEGF release from subepithelial myofibroblasts. *Eur J Pharmacol.* 2008;578(2-3):279-85.
64. Bulut K, Meier JJ, Ansorge N, Felderbauer P, Schmitz F, Hoffmann P, Schmidt WE, Gallwitz B. Glucagon-like peptide 2 improves intestinal wound healing through induction of epithelial cell migration in vitro-evidence for a TGF-beta-mediated effect. *Regul Pept.* 2004;121(1-3):137-43.
65. Austin K, Imam NA, Pintar JE, Brubaker PL. IGF binding protein-4 is required for the growth effects of glucagon-like peptide-2 in murine intestine. *Endocrinology.* 2015 Feb;156(2):429-36.
66. Wilhelm SM, Lipari M, Kulik JK, Kale-Pradhan PB. Teduglutide for the Treatment of Short Bowel Syndrome. *Ann Pharmacother.* 2014;48(9):1209-1213.
67. Yusta B, Somwar R, Wang F, Munroe D, Grinstein S, Klip A, Drucker DJ. Identification of glucagon-like peptide-2 (GLP-2)-activated signaling pathways in baby hamster kidney fibroblasts expressing the rat GLP-2 receptor. *J Biol Chem.* 1999;274(43):30459-67.
68. Estall JL, Drucker DJ. Dual regulation of cell proliferation and survival via activation of glucagon-like peptide-2 receptor signaling. *J Nutr.* 2003;133(11):3708-11.
69. Tuncer M. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.1302-1304.
70. Kayaalp O, Uzbay T. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.666.
71. Richardson B.P., Serotonin and Nociception, *Annals of the New York Academy of Sciences*, Volume 600, The Neuropharmacology of Serotonin, 2006, s511-519.

72. Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical basis of neuropharmacology. Seneth Edition, New York: Oxford Univercity Press,1996:119-122.
73. Demirel Yılmaz E, Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.1322-1323.
74. Erdine S, Ağrı; Opioid Analjezikler, Nobel Tıp Kitabevi; 2000. s494-509.
75. Bökesoy TA, Çakıcı, Melli M. Farmakoloji ders kitabı, Türk Farmakoloji Derneği Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Sti. 2000.
76. Makuch W, Mika J, Rojewska E, Zychowska M, Przewlocka B. Effects of selective and non-selective inhibitors of nitric oxide synthase on morphine- and endomorphin-1-induced analgesia in acute and neuropathic pain in rats. Neuropharmacology. 2013;75:445-57.
77. Özbek H, Karatas Y, Aksu F, Özcengiz D, İnan SY, Isık G. L-arjinin ve N-nitro- L-arjinin farelerde tail-flick cevabı ve morfin analjezisi üzerine etkisi. Ağrı, 2000; 12(3):19-25.
78. Kawabata A, Manabe S, Manabe Y, Takagi H. Effect of topical administration of L-arginine on formalin-induced nosiception in the Mouse: a dual role of peripherally formed NO in pain modulation. Br J Pharmacol, 1994; 112(2):547-50.
79. Kayaalp O, Uzbay T. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.681-683.
80. Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı. Oğuz Kayaalp, editör. Ankara: Pelikan Yayıncılık Ltd.Şti.; 2012. s.829-830.
81. GutsteinHB, Mansour A, Watson SJ, Akil H, Fields HL. Mu and kappa receptors in periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. Neuroreport, 1998, 9:1777-1781.
82. Mansour A, Taylor LP, Fine JL. Key residues defining the mu-opioid receptor binding pocket: A site-directed mutagenesis study. J.Neurochem., 1997, 68:344-353.
83. Goodman&Gilman. Tedavinin Farmakolojik Temeli. 11. Baskı. Brunton Lawrence, editör. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti.; 2009. s.557.
84. F.Arıcioglu. Türk Farmakoloji Derneği, XXII. Eğitim Toplantısı, İnflamasyon ve Ağrı; 29 Mayıs 2015, Adana, Türkiye; s. 38.

85. Komsuoglu Celikyurt I, Mutlu O, Ulak G, Uyar E, Bektaş E, Yıldız Akar F, Erden F, Tarkun I. Exenatide treatment exerts anxiolytic- and antidepressant-like effects and reverses neuropathy in a mouse model of type-2 diabetes. *Med Sci Monit Basic Res.* 2014;20:112-7.
86. Gumuslu E, Cine N, Ertan Gökbayrak M, Mutlu O, Komsuoglu Celikyurt I, Ulak G. Exenatide Alters Gene Expression of Neural Cell Adhesion Molecule (NCAM), Intercellular Cell Adhesion Molecule (ICAM), and Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM) in the Hippocampus of Type 2 Diabetic Model Mice. Version 2. *Med Sci Monit.* 2016;22:2664-9.
87. Seufert J, Gallwitz B. The extra-pancreatic effects of GLP-1 receptor agonists: a focus on the cardiovascular, gastrointestinal and central nervous systems. *Diabetes Obes Metab.* 2014;16(8):673-88.
88. Perry T, Lahiri DK, Sambamurti K et al. Glucagon-like peptide-1 decreases endogenous amyloid- β peptide (A β) levels and protects hippocampal neurons from death induced by A β and iron J. *Neurosci Res* 2003; 72: 603–12.
89. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev.* 2007;87(4):1409-39.
90. Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab.* 2013;17(6):819-37.
91. Pugazhenti U, Velmurugan K, Tran A, Mahaffey G, Pugazhenti S. Anti-inflammatory action of exendin-4 in human islets is enhanced by phosphodiesterase inhibitors: potential therapeutic benefits in diabetic patients. *Diabetologia.* 2010;53(11):2357-68.
92. Koehler JA, Baggio LL, Lamont BJ, Ali S, Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 receptor activation modulates pancreatitis-associated gene expression but does not modify the susceptibility to experimental pancreatitis in mice. *Diabetes.* 2009;58(9):2148-61.
93. Hogan AE, Tobin AM, Ahern T, Corrigan MA, Gaoatswe G, Jackson R, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and the regulation of human invariant natural killer T cells: lessons from obesity, diabetes and psoriasis. *Diabetologia.* 2011;54(11):2745-54.
94. Lin CH, Lin CC. Sitagliptin attenuates inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated cardiomyocytes via nuclear factor- κ B pathway inhibition. *Exp Ther Med.* 2016;11(6):2609-15.
95. Ripken D, van der Wielen N, Wortelboer HM, Meijerink J, Witkamp RF, Hendriks HF. Nutrient-induced glucagon like peptide-1 release is modulated by serotonin. *J Nutr Biochem.* 2016;32:142-50.

96. Avila-Rojas SH, Velázquez-Lagunas I, Salinas-Abarca AB, Barragán-Iglesias P, Pineda-Farias JB, Granados-Soto V. Role of spinal 5-HT_{5A}, and 5-HT_{1A/1B/1D}, receptors in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation in rats. *Brain Res.* 2015;1622:377-85.
97. Iyengar S, Webster AA, Hemrick-Luecke SK, Xu JY, Simmons RM. Efficacy of duloxetine, a potent and balanced serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor in persistent pain models in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;311(2):576-84.
98. Atasever M, Namlı Kalem M, Sönmez Ç, Seval MM, Yüce T, Sahin Aker S, Koç A, Genc H. Lower serotonin level and higher rate of fibromyalgia syndrome with advancing pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016:1-8.
99. Loyd DR, Chen PB, Hargreaves KM. Anti-hyperalgesic effects of anti-serotonergic compounds on serotonin- and capsaicin-evoked thermal hyperalgesia in the rat. *Neuroscience.* 2012;203:207-15. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.12.019.
100. Farkas I, Vastagh C, Farkas E, Bálint F, Skrapits K, Hrabovszky E, Fekete C, Liposits Z. Glucagon-Like Peptide-1 Excites Firing and Increases GABAergic Miniature Postsynaptic Currents (mPSCs) in Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neurons of the Male Mice via Activation of Nitric Oxide (NO) and Suppression of Endocannabinoid Signaling Pathways. *Front Cell Neurosci.* 2016;10:214.
101. Miyamoto T, Dubin AE, Petrus MJ, Patapoutian A. TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One.* 2009 Oct 29;4(10):e7596.
102. Kawano T, Zoga V, Kimura M, Liang MY, Wu HE, Gemes G, McCallum JB, Kwok WM, Hogan QH, Sarantopoulos CD. Nitric oxide activates ATP-sensitive potassium channels in mammalian sensory neurons: action by direct S nitrosylation. *Mol Pain.* 2009 Mar 14;5:12.
103. Xie S, Liu B, Fu S, Wang W, Yin Y, Li N, Chen W, Liu J, Liu D. GLP-2 suppresses LPS-induced inflammation in macrophages by inhibiting ERK phosphorylation and NF- κ B activation. *Cell Physiol Biochem.* 2014;34(2):590-602.
104. Ivory CP, Wallace LE, McCafferty DM, Sigalet DL. Interleukin-10-in dependent anti-inflammatory actions of glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008;295(6):1202-10.
105. Sigalet DL, Wallace LE, Holst JJ, Martin GR, Kaji T, Tanaka H, Sharkey KA. Enteric neural pathways mediate the anti-inflammatory actions of glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007; 293 (1): 211-21.

106. Li N, Liu BW, Ren WZ, Liu JX, Li SN, Fu SP, Zeng YL, Xu SY, Yan X, Gao YJ, LiuDF, Wang W. GLP-2 Attenuates LPS-Induced Inflammation in BV-2 Cells by Inhibiting ERK1/2, JNK1/2 and NF- κ B Signaling Pathways. *Int J Mol Sci.* 2016;17(2):190.
107. Iwai T, Jin K, Ohnuki T, Sasaki-Hamada S, Nakamura M, Saitoh A, Sugiyama A, Ikeda M, Tanabe M, Oka J. Glucagon-like peptide-2-induced memory improvement and anxiolytic effects in mice. *Neuropeptides.* 2015;49:7-14.
108. Iwai T, Ohnuki T, Sasaki-Hamada S, Saitoh A, Sugiyama A, Oka J. Glucagon-like peptide-2 but not imipramine exhibits antidepressant-like effects in ACTH-treated mice. *Behav Brain Res.* 2013;243:153-7.
109. Hsieh J, Trajcevski KE, Farr SL, Baker CL, Lake EJ, Taher J, Iqbal J, Hussain MM, Adeli K. Glucagon-Like Peptide 2 (GLP-2) Stimulates Postprandial Chylomicron Production and Postabsorptive Release of Intestinal Triglyceride Storage Pools via Induction of Nitric Oxide Signaling in Male Hamsters and Mice. *Endocrinology.* 2015;156(10):3538-47.
110. Yokogawa F, Kiuchi Y, Ishikawa Y, Otsuka N, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A. An investigation of monoamine receptors involved in antinociceptive effects of antidepressants. *Anesth Analg.* 2002 Jul;95(1):163-8.
111. Otsuka N, Kiuchi Y, Yokogawa F, Masuda Y, Oguchi K, Hosoyamada A. Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats. *J Anesth.* 2001;15(3):154-8.
112. Alhaider AA. Antinociceptive effect of ketanserin in mice: involvement of supraspinal 5-HT₂ receptors in nociceptive transmission. *Brain Res.* 1991 Mar 15;543(2):335-40.
113. Morteau O, Julia V, Eeckhout C, Bueno L. Influence of 5-HT₃ receptor antagonists in visceromotor and nociceptive responses to rectal distension before and during experimental colitis in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 1994;8(6):553-62.
114. Hui H, Farilla L, Merkel P, Perfetti R. The short half-life of glucagon-like peptide-1 in plasma does not reflect its long-lasting beneficial effects. *Eur J Endocrinol.* 2002 Jun;146(6):863-9.
115. Iwai T, Hayashi Y, Narita S, Kasuya Y, Jin K, Tsugane M, Oka J. Antidepressant-like effects of glucagon-like peptide-2 in mice occur via monoamine pathways. *Behav Brain Res.* 2009 Dec 1;204(1):235-40.
116. Palleria C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, Iannone M, Spiga R, Sesti G, Constanti A, De Sarro G, Arturi F, Russo E. Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. *Behav Brain Res.* 2017 Jan 3;321:157-169.