

**T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DEĞİŞİK HEPARİN TÜREVLERİNİN SIÇANLARDA  
DENEYSEL AĞRI VE İNFLAMASYON MODELLERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**SHEMSU UMER HUSSEN**

**DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ**

**ZONGULDAK**

**2017**

**T.C.  
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DEĞİŞİK HEPARİN TÜREVLERİNİN SIÇANLARDA  
DENEYSEL AĞRI VE İNFLAMASYON MODELLERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**SHEMSU UMER HUSSEN**

**DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ**

**ZONGULDAK**

**2017**

**KABUL ve ONAY:**

**“DEĞİŞİK HEPARİN TÜREVLERİNİN SIÇANLARDA DENEYSEL AĞRI VE İNFLAMASYON MODELLERİ ÜZERİNE ETKİSİ”** başlıklı bu çalışma Jürimiz tarafından değerlendirilerek, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi Olarak Kabul Edilmiştir.

18 Nisan 2017

**Başkan:** Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU

**Üye:** Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ

**Üye:** Doç. Dr. Meryem AKPOLAT FERAH

**Üye:** Prof. Dr. Zehra YILMAZ

**Üye:** Yrd. Doç. Dr. Bilge ÖZCAN

**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

**TARİH:** 18.04.2017

Doç. Dr. Mustafa Murat KOÇAK  
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim sırasında bilgi, yardım ve ilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmamda her türlü destek sağlayan ve bana yol gösteren kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Günnur ÖZBAKIŞ DENGİZ ile, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalının öğretim üyelerinden Prof. Dr. Z. Nur BANOĞLU ve Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ'ye teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmamın histopatolojik analizi ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Nilüfer KANDEMİR'e yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bana burs imkânı sağlayan "Türkiye Bursları" na, Addis Ababa Üniversitesi'ne ve doktora eğitimim süresince ilgi, sevgi ve sonsuz destekleri ile daima yanımda olan eşime ve en sıkıntılı anlarımda bile yüzümü güldüren çocuklarıma sonsuz teşekkürler.

**Shemsu Umer HUSSEN**  
**Mayıs 2017, ZONGULDAK**

## ÖZET

**Shemsu Umer HUSSEN, Değişik Heparin Türevlerinin Sıçanlarda Deneysel Ağrı ve İnflamasyon Modelleri Üzerine Etkisi. Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Zonguldak, 2017.**

Çalışmamızda, sıçanlarda değişik heparin türevlerinin (heparin, enoksaparin ve bemiparin) akut ve kronik anti-inflamatuvar ve analjezik etkilerinin var olup olmadığını araştırdık.

Çalışmamızda akut inflamasyon karragenin modeli, kronik inflamasyon koton-pellet granüloma testi, analjezik etki hot-plate ağrı modeli ile değerlendirildi. Akut inflamasyon ve ağrı çalışmalarında heparin (100-500-1000 Ü/kg), enoksaparin (100-200-400 Ü/kg) ve bemiparin (125-250-500 Ü/kg) dozlarında kullanıldı.

Karragenin pençe ödemi modelinde, pençe hacimleri, iki ayak arasındaki ağırlık farkları ve histopatolojik olarak değerlendirildiğinde heparin (100-1000 Ü/kg) kontrol grubuna göre belirgin antiinflamatuvar etki göstermiştir ( $p<0.05$ ). Bemiparin ise sadece düşük dozda (125 Ü/kg) 2. ve 3.saatte inflamasyonu azaltmış ( $p<0.05$ ) ancak iki ayak arasındaki ağırlık farkı ve histopatolojik sonuçlar bunu desteklememiştir. Enoksaparin ise anlamlı antiinflamatuvar etki göstermemiştir. Koton-pellet granüloma testinde heparin (1000 Ü/kg) ve bemiparin (125 Ü/kg) belirgin antiproliferatif etkiler göstermiş. Hot-plate testinde, enoksaparin (100, 200 ve 400 Ü/kg) genel olarak tüm ölçümlerde anlamlı antinosiseptif etki gösterirken, heparin(tüm dozlarda) ve bemiparin (125 Ü/kg) ise sadece 30.dakikada belirgin antinosiseptif etki göstermişlerdir.

Sonuç olarak, heparin ve bemiparin akut ve kronik antiinflamatuvar ve erken dönemde antinosiseptif etkiler göstermişlerdir. Akut antiinflamatuvar etkilerinin bazı nöromediatörlerin (histamin, serotonin, kinin, prostaglandin vb, salınımı) ve aktive pıhtılaşma faktörlerinin inhibisyonuna bağlı olabileceğini, sergiledikleri kronik antiinflamatuvar etkilerinin ise bazı kronik inflamatuvar hastalıklar için olumlu bir özellik olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda, enoksaparinin sadece antinosiseptif etkiler göstermesi ise, bu etkilerinin farklı mekanizmalar üzerinden olabileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Heparin, Enoksaparin, Bemiparin, Hot-Plate, Karragenin, İnflamasyon, Koton-Pellet Granuloma Testi, Sıçanlar

## ABSTRACT

**Shemsu Umer HUSSEN, Effects of Different Heparin Derivatives on Experimental Pain and Inflammation Models in Rats. Bülent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Medical Pharmacology, Doctorate Thesis, Zonguldak, 2017.**

In our study, we investigated whether different heparin derivatives (heparin, enoxaparin and bemiparin) have acute and chronic anti-inflammatory and analgesic effects in rats.

In our study, acute inflammation in carrageenan model, chronic inflammation in cotton-pellet granuloma test and analgesic effect by hot-plate pain model were evaluated. In acute inflammation and pain studies, heparin (100-500-1000 U/kg), enoxaparin (100-200-400 U/kg) and bemiparin (125-250-500 U/kg) doses were used. In carrageenan induced paw edema model in rats, heparin (100-1000 U/kg) showed significant anti-inflammatory effect compared to the control group based on paw volumes, weight differences between the two feet and histopathologic evaluations. Bemiparin reduced inflammation at 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> h only at low doses (125 U / kg), but the weight difference between the two feet and histopathological results did not support this. Enoxaparin did not show significant anti-inflammatory effect. Heparin (1000 U/kg) and bemiparin (125 U / kg) showed significant antiproliferative effects in the cotton-pellet granuloma test. In the hot-plate test, enoxaparin (100, 200 and 400 U / kg) showed significant antinociceptive effects in all measurements, whereas heparin (at all doses) and bemiparin (125 U / kg) showed significant antinociceptive effect only at the 30<sup>th</sup> minute.

In conclusion, heparin and bemiparin showed acute and chronic antiinflammatory and early phase antinociceptive effects. We think that acute antiinflammatory effects may be due to the inhibition of some neuromediators (histamine, serotonin, prostaglandin, etc) and active coagulation factors, while their chronic antiinflammatory effects may be a favorable feature for some chronic inflammatory diseases. In our study, enoxaparin showed only antinociceptive effect and this may be through a different mechanisms.

**Key words:** Heparin, Enoxaparin, Bemiparin, Hot-Plate, carragenin, Inflammation, Koton-pellet granuloma test, Rats.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABU VE ONAY .....	ii
ÖNSÖZ .....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLO DİZİNİ .....	ix
ŞEKİL DİZİNİ .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. İnflamasyon Tanı ve Fizyopatolojisi.....	4
2.2. İnflamasyonun Kimyasal Mediatorler .....	7
2.2.1. Hücre kaynaklı mediatorler.....	9
2.2.1.1. Vazoaktif aminler.....	10
2.2.1.2. Araşidonik asid metabolitleri (Eikozanoidler).....	10
2.2.1.3. Trombosit aktive eden faktör (TAF).....	16
2.2.1.4. Sitokinler .....	17
2.2.2. Plazma kaynaklı mediatorleri.....	18
2.2.2.1. Kompleman sistemi.....	19
2.2.2.2. Kinin sistemi.....	19
2.2.2.3. Pıhtılaşma ve fibrinolitik sistemi .....	20
2.3. İnflamasyon ve Pıhtılaşma .....	22
2.4. Antiinflamatuvar Aktivite Testinde Kullanılan Yöntemler .....	24
2.4.1. Akut anti-inflamatuvar testleri .....	24
2.4.2. Kronik inflamasyon testi .....	25
2.5. Ağrının Tanımı ve Patofizyolojisi.....	25
2.5.1. Ağrının kimyasal mediatorleri .....	26
2.5.2. Hot-plate testi .....	29
2.6. Analjezik ve Anti-inflamatuvar İlaçlar .....	29
2.6.1. Steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (SAİİ) .....	29
2.6.2. Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ).....	30
2.6.2.1. Etki mekanizmaları .....	31

2.6.2.2. Farmakokinetik özellikleri ve istenmeyen yan etkileri .....	32
2.7. Heparin.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	35
3.1. Kimyasal Maddeler .....	35
3.2. Hayvanlar .....	35
3.3. Sıçanlarda Hot-Plate Ağrı Modeli.....	35
3.4. Sıçanlarda Karragenin ile Oluşturan Akut İnflamasyon Modeli (115).....	36
3.4.1. Histopatolojik incelemeler .....	38
3.5. Koton Pellet Granüloma Testi.....	38
3.6. Verilerin Değerlendirilmesi .....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Heparin Türevlerinin Karragenin İnflamasyonu Modeli Üzerine Etkileri.....	40
4.1.1. Heparinin etkileri .....	40
4.1.1.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri .....	40
4.1.1.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri .....	41
4.1.1.3. Histopatolojik etkileri.....	42
4.1.2. Enoksaparinin etkileri .....	45
4.1.2.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri .....	45
4.1.2.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri .....	46
4.1.2.3. Histopatolojik etkileri.....	47
4.1.3. Bemiparinin etkileri .....	48
4.1.3.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri .....	48
4.1.3.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri .....	49
4.1.3.3. Histopatolojik etkileri.....	50
4.2. Heparin Türevleri, Diklofenak ve Prednizolonun Koton-Pellet Metodu İle Oluşturulan Kronik İnflamasyon Modeli Üzerine Etkileri .....	52
4.3.2. Enoksaparinin etkileri .....	55
4.3.3. Bemiparinin etkileri .....	56
5. TARTIŞMA .....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	63
7. KAYNAKLAR .....	64
8. EKLER.....	75
Ek 1: Etik Kurul Onayı .....	75
9. ÖZGEÇMİŞ .....	76



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AİE	Antiinflamatuvar etki
APE	Antiproliferatif etki
A III	Antitrombin III
AA	Araşidonik asit
COX	Siklooksijenaz
TF	Doku faktörü
DMAH	Düşük molekül ağırlıklı heparin
FLA2	Fosfolipaz A2
FXII	Hageman Faktör
HPETE	Hidroperoksieikozatetraenoik asit
IgE	İmmunglobin E
İL	İnterlökin
IFN- $\gamma$	İnterferon gama
C5a	Kompleman eleman 5a
LOX	Lipooksijenaz
LPS	Lipopolisakarid
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrikoksit sentaz
NSAİİ	Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
PGG2	Prostaglandin endoperoksit
PAR	Proteaz ile aktive edilen reseptörler
ROS	Reaktif oksijen ürünlerin
SAİİ	Steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar
FII	Trombin
TXA2, TXB2	Tromboksanlar
TAF	Trombosit aktive eden faktör
TNF	Tümör nekroz faktörü
HMWK	Yüksek moleküler ağırlıklı kininogen

## TABLO DİZİNİ

### Sayfa

Tablo 1. NSAİİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırması. ....	31
Tablo 2. Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.....	40
Tablo 3. Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.....	42
Tablo 4. Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri. ....	44
Tablo 5. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.....	45
Tablo 6. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.....	46
Tablo 7. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri.....	47
Tablo 8. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.....	49
Tablo 9. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.....	50
Tablo 10. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri. ....	51
Tablo 11. Heparin türevleri, diklofenak ve prednizolonun koton-pellet metodu ile oluşturulan kronik inflamasyon modeli üzerine etkileri. ....	53
Tablo 12. Heparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri. ....	54
Tablo 13. Enoksaparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri.....	55
Tablo 14. Bemiparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri.....	56

## ŞEKİL DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 1. İnflamasyonun meydana gelişinde rol oynayan elemanlar .....	4
Şekil 2. İnflamasyon mediatörleri ve kaynakları .....	8
Şekil 3. İnflamatuvar yanıtın mediatörleri .....	9
Şekil 4. Araşidonik asit metabolitleri. ....	11
Şekil 5. Siklooksijenaz ürünleri. ....	12
Şekil 6. Lipooksijenaz ürünleri. ....	15
Şekil 7. İnflamasyonda TNF ve IL-1' in başlıca etkileri.....	18
Şekil 8. Aktive edilmiş Hageman faktörü ile tetiklenen kinin sistemi, pıhtılaşma sistemi, fibrinolitik sistemi ve kompleman sistemi arasındaki karşılıklı ilişki.....	21
Şekil 9. Doku faktörün FXa, FXIIa ve fibrin oluşundaki rolü.....	23
Şekil 10. Ağrının kimyasal mediatörleri .....	27
Şekil 11. Doku harabiyeti nedenli ağrı oluşması .....	28
Şekil 12. Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemeine etkileri. ....	41
Şekil 13. Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri. ....	42
Şekil 15. Heparin 1000 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.....	44
Şekil 16. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemeine etkileri.....	45
Şekil 17. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri. ....	46
Şekil 18. Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde nötrofil sayısı üzerine etkileri.....	47
Şekil 19. Enoksaparin 100 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.....	48
Şekil 20. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemeine etkileri. ....	49
Şekil 21. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri. ....	50
Şekil 22. Bemiparin 500 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.....	51
Şekil 23. Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde nötrofil sayısı üzerine etkileri.....	52

Şekil 24. Heparin türevleri, diklofenak ve prednizolonun koton-pellet metodu ile oluşturulan kronik inflamasyon modeli üzerine etkileri.....	53
Şekil 25. Heparine ait Hot plate testi sonuçları.....	54
Şekil 26. Enoksaparine ait Hot plate testi sonuçları.....	55
Şekil 27. Bemiparine ait Hot plate testi sonuçları.....	56



## 1. GİRİŞ

İnflamasyon, vasküler dokuların zararlı uyarılara karşı başlattığı karmaşık ve spesifik olmayan biyolojik bir cevaptır. Bu cevap zararlı uyarıların ortadan kaldırmak ve iyileşme sürecini başlatmak için organizmanın koruyucu bir girişimidir (1-3). İnflamasyonun başlangıcında, farklı hücreler aktif hale gelir ve inflamatuvar mediatörleri serbest bırakırlar. Bu mediatörler vazodilatasyon ve vasküler geçirgenliği artırarak plazma proteinlerinin ve sıvıların eksüdasyonuna ve lökositlerin yaralı dokulara göç etmelerine neden olurlar ve inflamasyon ya sınırlandırılmış olur ya da kronikleşir. Sınırlandırılmış inflamasyonun klasik belirtileri kızarıklık, şişlik, sıcaklık, ağrı ve fonksiyon kaybıdır. İnflamasyon ilerlediğinde ise sistemik belirtileri (ateş, titreme, takipne, hiperpne ve taşikardi) ortaya çıkar (4, 5).

İnflamasyon çeşitli nedenlere bağlı olabilir. Bunlar; enfeksiyonlar, alerjenler, kimyasal maddeler, travmalar, otoimmün hastalıklar, koagülopatiler, hipoksi ve hipohipertermi gibi metabolik durumlardır. İnflamasyonun tetiklenmesi birçok farklı mekanizma ile olsa da, bu uyarılara verilen cevap aynıdır. İnflamasyonun fizyopatolojisinde hemodinamik değişiklikler, polimorfonükleer lökosit (PMNL) infiltrasyonu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımı önemli rol oynamaktadır. Birçok hücre tarafından lokal olarak üretilen histamin, serotonin, araşidonik asit metabolitleri, sitokinler, nitrik oksit, serbest oksijen radikalleri, lizozomal enzimler gibi kimyasal mediatörlerle birlikte, plazma kökenli kompleman, kinin, koagülasyon ve fibrinolitik sistemlerin aktivasyonu da inflamasyondaki semptomlardan ve doku hasarının oluşumundan sorumlu tutulmuşlardır (6, 7).

İnflamasyon ile pıhtılaşma sistemleri arasında iki yönlü etkileşim vardır. Bu iki sistem arasındaki bağlantıyı trombin oluşturur. Trombinin, proteaz ile aktive edilen reseptörlere (PAR) bağlanarak proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) üretimini ve sekresyonunu artırdığı, endotel hücreleri, monositler ve nötrofilde p-selektin ekspresyonuna yol açtığı, siklooksijenaz-2 (COX-2)'nin indüklenmesine ve NO üretimine neden olduğu bildirilmektedir (8-11). Ayrıca, trombinin PAR'ı aktive ederek mast hücrelerinden vazoaktif aminlerin salımına yol açtığı ve PMNL'ler için önemli bir kemotaktik madde olduğu ileri sürülmektedir (12).

İnflamatuvar cevabı modüle eden tedavi seçenekleri, ya inflamatuvar yoldaki mediatörleri ya da belirli hedefleri baskılayarak gerçekleşir. İnflamatuvar hastalıkların tedavisinde steroidal ve non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) kullanılmaktadır ve bunların uzun süre kullanılması çok ciddi yan etkilere yol açmaktadır. Bundan dolayı yan etkileri minimum ve güvenilirliği yüksek olan anti-inflamatuvar ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır (13, 14).

Memelilerin, mukozal ve konnektif dokulardaki mast hücrelerinde endojen heparin bulunur ve bu heparinin inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca, heparin inflamasyon kaskadında yer alan farklı proteinlere bağlanarak bu proteinlerin pro-inflamatuvar etkilerini inhibe etmektedir (15). Heparin 1930'lu yıllardan beri klinikte kullanılan, trombozun ve pulmoner embolinin önlenmesinde ve tedavisindeki etkinliği iyi bilinen bir ilaçtır. 1980'lerden sonra kanamaya neden olmaksızın antikoagulan etki yapan düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) preparatları kullanılmaya başlanmıştır (16). Son yıllarda heparin ve DMAH preparatlarının antikoagulan etkilerine ilave olarak antiinflamatuvar ve immünmodülatör özelliklerinin de olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle astım, pulmoner fibrozis ve inflamatuvar barsak hastalıklarında faydalı olabilecekleri düşünülmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda, heparin türevlerinin nötrofil göçünü inhibe ettiği, proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığı, reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunu engellediği, damar geçirgenliğini azalttığı, ülserli mukozanın rejenerasyonu ve iyileşme sürecini hızlandırdığı ve bu etkileri trombine bağlanarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (15).

Çalışmamızda standart heparin, düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) preparatlardan enoksaparin ve bemiparin kullanılmıştır. Bu heparin preparatları, trombin (FIIa) ve FXa inhibisyonu yaparak anti-koagulan etki göstermektedirler, ancak FXa / FIIa üzerindeki inhibitör oranları farklılık göstermektedir. Standart heparin preparatı antitrombin III (A III)-trombin kompleksinde yer alan hem A III'e hem de trombine bağlanırken, DMAH preparatları ise sadece A III'e bağlanır. Ayrıca, trombosit yüzeyine bağlanmış faktör Xa standart heparine dirençli iken, DMAH'ler ile inhibe edilebilmektedir (17).

Heparin'in antikoagulan etkisi, plazmada inaktif durumda bulunan A III'ü aktif hale dönüştürmesi sonucu ortaya çıkar. A III, aktive edilmiş proteaz pıhtılaşma faktörlerini (FIIa, XIIa, XIa, Xa, IXa ve kallikrein gibi) inhibe eder. Heparinin antikoagulan etkisine en fazla trombin (FIIa) ve faktör Xa üzerindeki inhibitör etkisi

katkıda bulunur. Ayrıca, heparin A III'den bağımsız olarak da trombine bağlanır ve A III ile birlikte trombositlerin agregasyonunu önler. Bu da antikoagulan etkisine ikincil bir katkı sağlamaktadır. Enoksaparin ve bemiparinin antikoagulan etkileri, A III tarafından faktör XIIa, Xa ve kallikrein'in inhibisyonunu potansiyalize etmelerine bağlıdır, ancak IXa ve XIa'nın inhibe edilmesini değiştirmezler ve A III-trombin kompleksinde sadece A III'e bağlanarak etkili olurlar (18).

Yukarıda da belirttiğimiz gibi inflamasyon ve pıhtılaşma olayı birbirleri ile etkileşim halinde olduğundan, çalışmamızda, anti-FXa/anti-FIIa aktiviteleri farklılık gösteren, değişik heparin türevlerinin (standart heparin, enoksaparin ve bemiparin) sıçanlarda hot-plate testi ile oluşturulan ağrı modelinde analjezik etkilerinin, karragenin ile oluşturulan akut inflamasyon ve koton-pellet yöntemi (pamuk bilye) ile oluşturulan kronik inflamasyon modellerinde de anti-inflamatuvar etkilerinin var olup olmadığını araştırmayı planladık.

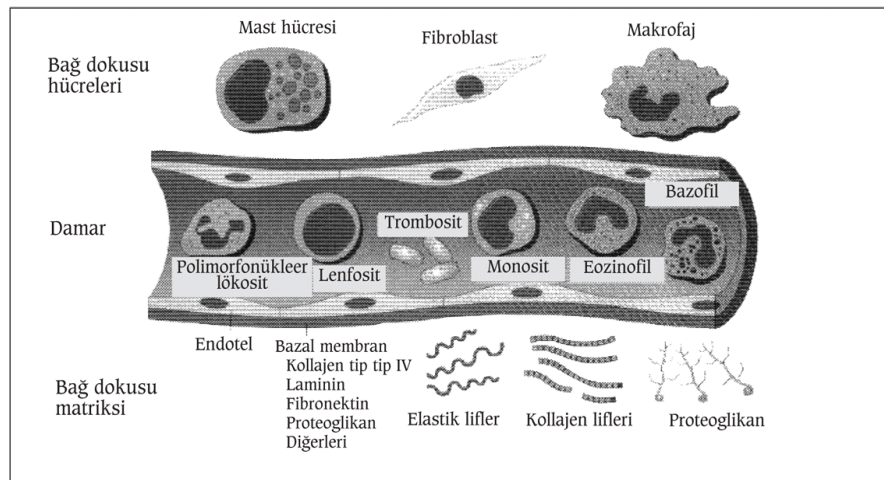
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnflamasyon Tanı ve Fizyopatolojisi

İnflamasyon, organizmada mikroorganizmaların (bakteri, virüs, mantar vb.), kimyasal maddelerin, fiziksel (termal, mekanik vb) ve diğer etkenlerin oluşturduğu doku hasarına karşı vasküler, nörolojik, hümmoral ve hüccresel düzeyde oluşan ve bir seri karmaşık olaylar zinciri içeren fizyolojik bir cevaptır. Bu yanıtın biyolojik amacı, hasara neden olan etkeni ve ortaya çıkan ürünleri (nekrotik/ölu hücre ve doku/yabancı cisim artıklarını) ortadan kaldırmak, zararlı etkeni olduğu yerde sınırlı tutmak ve kontrol sağlandıktan sonra, hasar görmüş dokuların tamirini ve yenilenmesini sağlamaktır (2, 4, 19-22). İnflamatuvar reaksiyonun gidiş sırasında, arzu edilen sonuca ulaşılıncaya kadar bir takım bulgular ortaya çıkar (19, 21, 22).

- Tumor (Şişlik): Ödem nedeniyle gelişir.
- Rubor (Kızarıklık): Vazodilatasyon ve kan akış hızının artışına bağlıdır.
- Calor ( Isı artışı): Vazodilatasyon ve kan akış hızının artışına bağlıdır.
- Dolor (Ağrı): Ödem sıvısının sinir uçlarına yaptığı bası ve bradikinin, prostaglandin gibi mediatörlere bağlı ortaya çıkar.
- Fonctio laesa (Fonksiyon kaybı).

Çeşitli hücre ve moleküller inflamatuvar yanıtta oldukça önemli rol oynarlar. Bunlar arasında lökositler, plazma proteinleri, vasküler duvar hücreleri, bağ dokusunun hücreleri ve ekstrasellüler matriksine ait hücreler yer almaktadır (Şekil 1) (23).



Şekil 1. İnflamasyonun meydana gelişinde rol oynayan elemanlar (23).



İnflamasyon, çok iyi kontrol edilen bir dizi reaksiyonlardan oluşur. Bu reaksiyonlar, hasara maruz kalan dokularda lokal olarak tamir olayını başlatır. Meydana gelen inflamasyon sonucunda, hasara uğramış dokuda ya tam rezolüsyon olur ya da uyarın sınırlandırılarak apse gelişir veya uyarının dokuda oluşturduğu hasar sonucu fibrozis ile iyileşmeye veya kronik inflamasyona yol açabilir (24, 25).

İnflamatuvar yanıt; inflamatuvar ajan ortamdan uzaklaştırıldığında sonlanır ama bu süreç onarımla iç içedir. Olay devam ederken, onarım süreci başlar, fakat ajan tamamen uzaklaştırıldıktan sonra parenkimal ve bağ dokusu elemanlarının rejenerasyonu ile tamamlanır. Bazı durumlarda ise, inflamasyon zarar verebilir; inflamasyon esnasında vücutta zararlı etkenleri uzaklaştırmaya yönelik olarak geliştirilen mekanizmalar normal dokuları zedeleyebilir. İnflamasyon yeterince kontrol edilemediğinde ve hastalık durumlarında oluşan patolojik inflamasyon ise, ekstrasellüler matriks harabiyetine ve organ disfonksiyonuna neden olmaktadır (4, 24, 26).

İnflamasyon; uyarının özelliğine, ilk uyarını yok etme konusunda oluşturulan yanıtın yeterliliğine ve oluşan doku hasarına bağlı olarak akut ve kronik olabilir. Akut inflamatuvar reaksiyon, dokunun irritasyonu veya yaralanmasını izleyen ilk savunma hattı olarak tanımlanabilirken, kronik inflamatuvar reaksiyon savunmanın ikinci hattı olarak karşımıza çıkar (21, 23, 27).

**Akut inflamasyon**, zedeleyici ajana karşı hızlı başlayan, kısa süreli (birkaç dakikadan başlayıp birkaç gün sürebilen) ve esas olarak sıvı, plazma proteinleri eksudasyonu (ödem) ve lökositlerden zengin doku infiltrasyonu ile karakterize vücudun bir yanıtıdır. Mikroorganizmalar (bakteri, virüs v.s...), mekanik travma, kimyasal etkenler, radyasyon, temperatür değişiklikleri ve immünolojik reaksiyonlar akut inflamatuvar reaksiyona yol açan etkenlerdir (21,28). İnflamatuvar ajanın lokalizasyonu, niteliği ve etki süresi ne olursa olsun, akut inflamatuvar cevabın temel özellikleri her zaman aynıdır ve üç önemli bileşeni vardır (28-30), bunlar;

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

Akut inflamasyonda, en erken oluşan vazokonstriksiyon ve bunu takiben arteriol kapiller yatak ve venüllerde oluşan vazodilatasyon olayı, bölgesel kan akımını artırarak intravasküler hidrostatik basınç artışına neden olur. Bu sırada kapillerlerden doku aralığına bir sızıntı başlar. Ekstrasellüler alanda ilk başlarda protein içeriği düşük, ancak daha sonra protein içeriği yüksek ve lökosit de içeren “eksuda” adı verilen sıvı birikir. Zedelenmenin ciddiyetine bağlı olarak akut inflamasyon alanında ödem ve eksudasyon oluşma zamanı ve hızı değişir. Bu dönemde inflamatuvar eksudanın doku aralığında birikmesi, irritan ve toksik maddelerin dilüe edilmesine, lökositlerin, antikorların ve kompleman faktörlerinin inflamasyon alanına taşınmasına neden olur ve böylece inflamasyonlu bölgede hasar verici ajan izole edilerek nötralizasyonu sağlanır (21, 27).

Zedelenme alanındaki nötrofil ve monositler inflamatuvar reaksiyonda önemli rol oynarlar. Bu hücrelerin inflamasyon alanındaki etkilerini şu başlıklarda toplayabiliriz:

- Marginsiyon ve damar yüzeyine yayılma: Burada lökositler damar içinde periferde doğru yer değiştirirler ve vasküler endotelle karşı karşıya gelirler,
- Adezyon aşamasında endotele “selektin” adı verilen  $Ca^{2+}$  bağlayıcı transmembran proteinleri (integrinler) vasıtasıyla sıkı bir şekilde yapışırlar,
- Emigrasyon aşamasında lökositler endotel dışına göç ederler,
- Kemotaksis ve fagositoz aşamasında ise ektravasküler boşluğa çıkan lökositler zedelenmiş bölgede mikroorganizmaları öldürüp, nekrotik dokuları ve yabancı antijenleri parçalayıp, kimyasal mediatörleri ve oksijen radikallerini serbestleştirerek doku zedelenmesine yol açarlar (23, 27).

Akut inflamasyon, tam rezolüsyon, bağ dokusu replasmanı (fibrozis), apse oluşumu veya yanıtın yeterli olmadığı durumlarda kronik faz ile sonlanır (27-30).

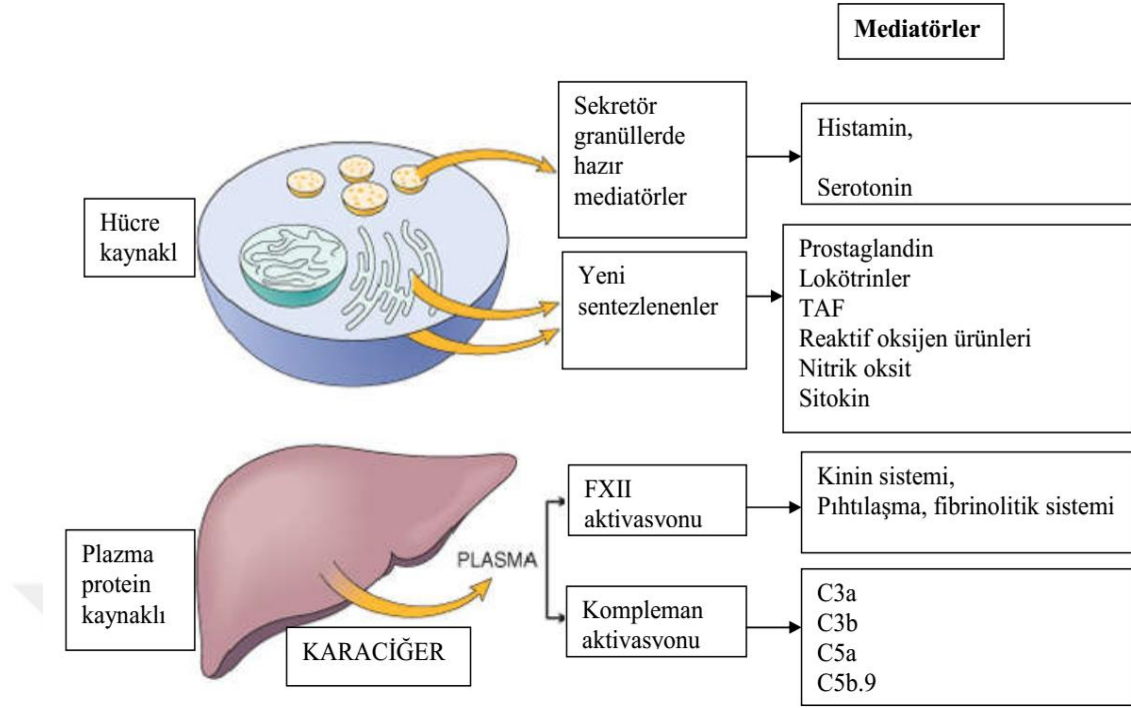
**Kronik inflamasyon**, doku hasarı ve onarım sürecinin iç içe olduğu uzun bir süreçtir. Ya akut inflamasyonu izler ya da akut inflamasyon bulguları olmadan sinsice başlayabilir. Persistan enfeksiyonlar, immun aracılı inflamatuvar hastalıklar veya potansiyel toksik ajanlara uzun süre maruz kalmak kronik inflamasyona neden olabilir. Histolojik incelemede, bunun akut inflamasyondan farkı, inflamasyon bölgesinde mononükleer hücrelerde belirgin artış olmasıdır. Bu mononükleer hücreler makrofaj, lenfosit ve plazma hücreleridir. Bu inflamatuvar hücreler doku hasarı, doku yıkımı, yeni damar proliferasyonu (anjiojenез) ve fibrozise neden

olurlar. Onarım fazıyla iç içe seyreden kronik inflamasyon bölgesinde kollajen, proteoglikan ve diğer kollajenöz proteinlerle ekstrasellüler matriksi oluşturan fibroblast proliferasyonuna ve angiogeneze ait bulgular da görülebilir (1, 21, 31, 32).

İnflamasyon bölgesinde, aktive olan makrofajlar, kronik inflamasyonun karakteristiği olan fibrozisi oluşturan ve doku hasarı yapan çeşitli maddeler salgırlar. Makrofajlardan salınan bu maddeler (enzim ve mediatörler) kuvvetli bağışıklık ve direnç sağlar. Ancak uygun olmayan şekilde aktive olduklarında ise, otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, doku hasarına neden olabilirler. Kronik inflamasyonun bir diğer hücre grubu olan lenfositler de, makrofajlarla karşılıklı olarak birbirini uyaran maddeler sentezler ve hem immünolojik hem de immünolojik olmayan reaksiyonlarda aktive olabilirler. Antijenle temas sonrası, aktive olan lenfositlerden lenfokinler salınır, bunlardan gama interferon monosit ve makrofajları stimüle eder. Aktive makrofajlardan salınan sitokinler de lenfositleri aktive eden inflamatuvar mediatörlerdir ve inflamatuvar yanıtın devamını sağlarlar. Plazma hücreleri, antijene ve inflamasyon bölgesinde değişen doku komponentlerine karşı antikor oluştururlar. Eozinofiller, IgE ile oluşan immün reaksiyonlarda ve parazitik enfeksiyonlarda rol oynarlar. Mast hücreleri ise hem akut hem kronik inflamasyona katılır ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinleri artırarak lökosit infiltrasyonunu sağlarlar (23).

## **2.2. İnflamasyonun Kimyasal Mediatörler**

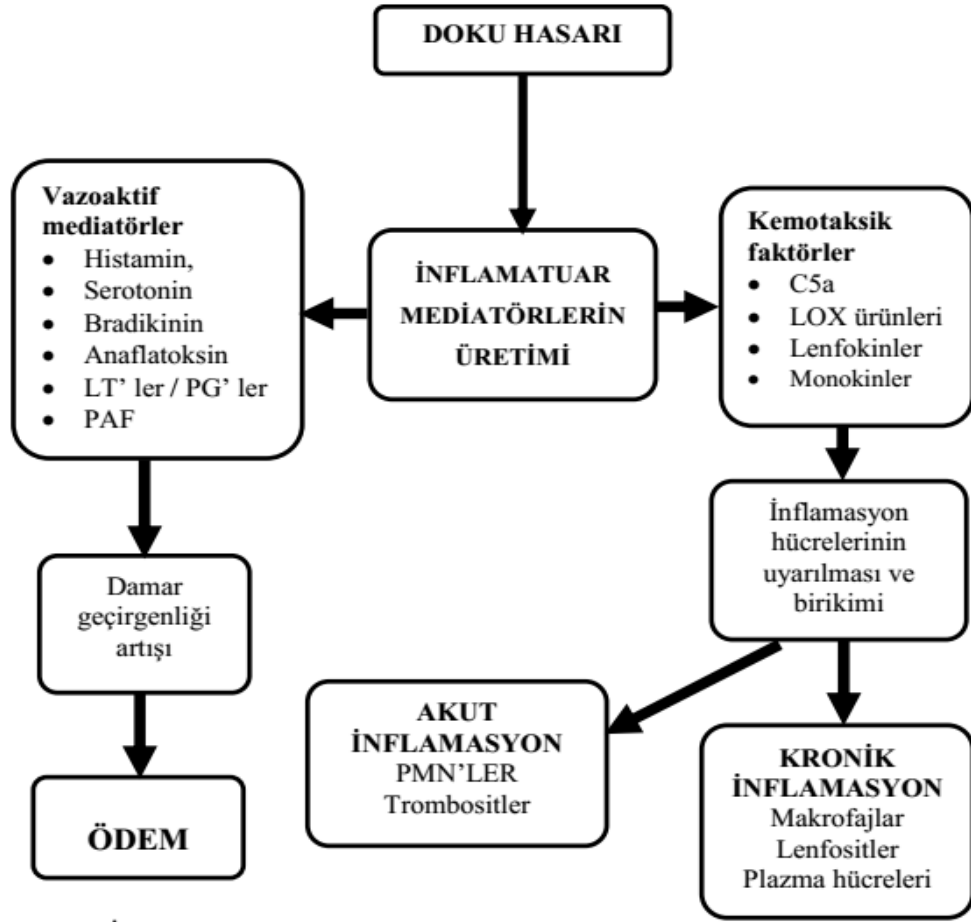
İnflamatuvar cevap sırasında meydana gelen vasküler ve hücreyel olayların pek çoğu kimyasal mediatörler ile oluşmaktadır. Mediatörler inflamasyon bölgesindeki hücrelerde lokal olarak yapılabildiği gibi, plazmada (tipik olarak karaciğerde sentezlenir) inaktif prekürsör olarak dolaşarak inflamasyon bölgesinde aktive olabilirler (Şekil 2) (23, 33).



**Şekil 2.** İnflamasyon mediatörleri ve kaynakları (23).

Hücre kaynaklı mediatörler normalde hücre içi granüllerde depolanmış hazır halde bulunurlar (mast hücresindeki histamin gibi) ve hücre aktive olduğunda hızla salınırlar veya uyarıdan hemen sonra da sentezlenebilirler (prostaglandin ve sitokin gibi) (7). Plazma kaynaklı mediatörler (kompleman proteinleri, kinin) prekürsor halinde bulunurlar ve bir seri proteolitik parçalanma sonucu aktive olurlar (7).

İnflamasyon mediatörlerinin çoğu hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak biyolojik aktivitelerini gösterirler. Mediatörler bir veya birkaç hücreyi etkileyebilir veya etkiledikleri hücre tiplerine göre farklı etkilere neden olabilir. Mediatörler normalde hücreden salındığında çok kısa ömürlüdür. Bazı mediatörler (lizozomal proteaz, radikal oksijen ürünleri) direkt enzimatik ve toksik etkileri ile bazen zararlı etkiler gösterebilirler. Farklı mediatörler benzer etkileri ile bir cevabı kuvvetlendirebileceği gibi zıt etki göstererek cevabı kontrol da edebilir. Mediatör aktive olup hücreden salınınca, hızlıca tükenir (örn. araşhidonik asit metabolitleri), herhangi bir enzim ile inaktive edilebilir (örn. kininaz bradikininin inaktive eder), elimine olabilir (örn. antioksidanlar toksik oksijen metabolitlerini temizler) veya inhibe edilebilir (kompleman inhibitör proteinler) (Şekil 3) (6, 7, 33).



Şekil 3. İnflamatuvar yanıtın mediatörleri (6,7).

### 2.2.1. Hücre kaynaklı mediatörler

İnflamasyon bölgesine göç eden lökositler yanında, inflamasyon bölgesinde var olan doku makrofajları, mast hücreleri ve endotel hücreleri farklı inflamatuvar mediatörleri üretebilme yeteneğine sahiptirler. Bu farklı mediatörler direkt olarak birbirleriyle etkileşerek ya da inaktive edilerek inflamasyonun biyolojik sürecinde görev alırlar. Hücre kaynaklı mediatörler şu şekilde sınıflandırılabilir (7, 33):

- Vazoaktif âminler: Histamin ve serotonin
- Araşidonik asid metabolitleri (Eikozanoidler): Prostanoidler ve lökotrienler
- Trombosit aktive eden faktör (TAF)
- Sitokinler
- Diğer mediatörler (Oksijen türevi serbest radikaller, Lizozomal enzimler)

#### 2.2.1.1. Vazoaktif aminler

Histamin ve serotonin akut inflamasyonun en başında artmış kapiller permeabiliteden sorumlu mediatörlerdendir (33).

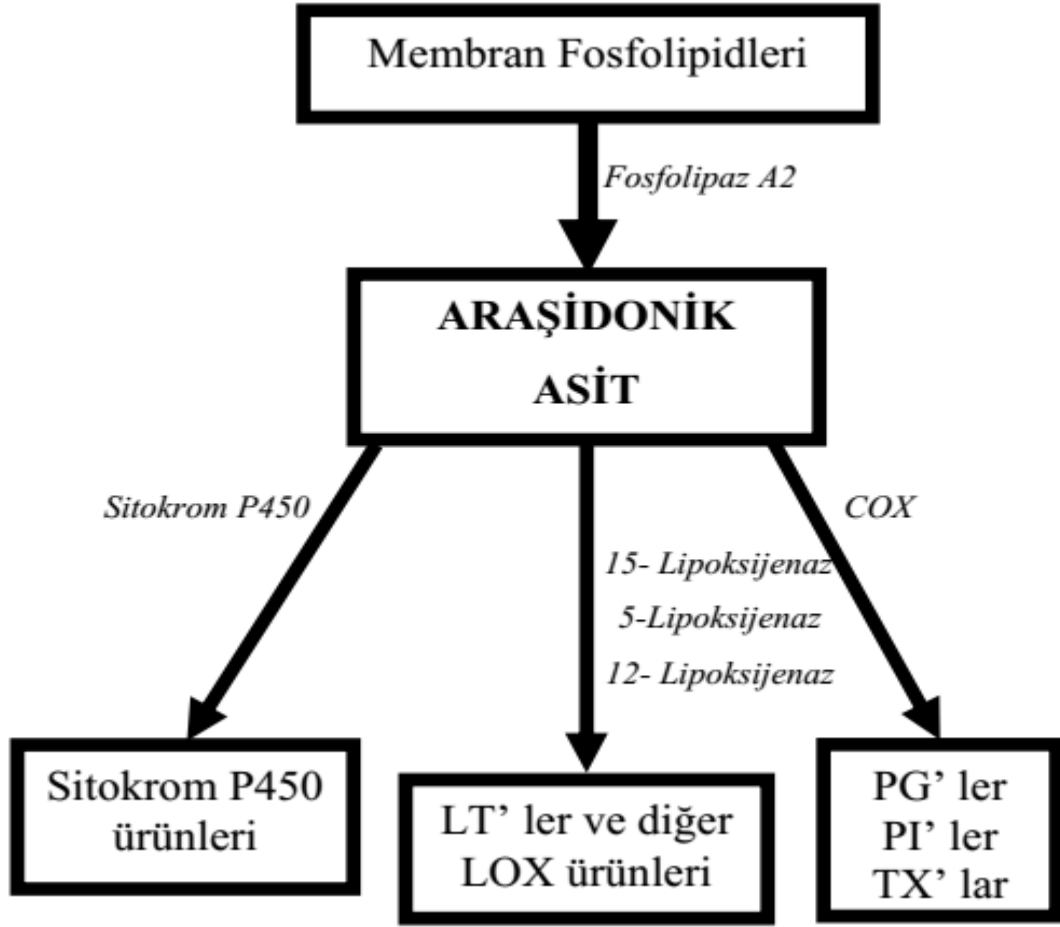
- **Histamin:** Akut inflamasyonun erken döneminde önem taşır. Heparin, histamin ve protein kompleksi şeklinde mast hücreleri, bazofil lökositleri ve trombositlerdeki granüllerde depolanır (34). Mast hücrelerinden histamin salınması; bu hücrelerin degranülasyonuna yol açan çeşitli fiziksel uyarılar (travma ve soğuk/sıcak vb.), bu hücrelere antikor bağlanmasına sebep olan otoimmün olaylar, kompleman faktörleri, nötrofillerden salınan katyonik lizozomal proteinler ve bazı nöropeptidler aracılığıyla olur. Bu uyarılar sonucu mast hücrelerinden salınan histamin, arteriyollerde dilatasyon ve venüllerde vasküler permeabilite artışına neden olur. Histamin bu etkilerini H<sub>1</sub> reseptörleri aracılığı ile yapar ve inflamasyonun başlangıcındaki vasküler permeabiliteyi artıran en önemli mediatördür. Ayrıca, eozinofiller için de kemotaktik rol oynamaktadır. Bütün bu olaylar sonucunda, histamin histaminaz ile hızlıca inaktive edilir (34-36).

- **Serotonin:** Trombositlerde ve enterokromafin hücrelerde bulunur. Trombositlerin kollajen, trombin, antijen-antikor kompleksi ile reaksiyona girmesi sonucu serotonin salgılanması başlar. IgE aracılı reaksiyonlarda mast hücrelerinden salınan Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF), trombositlerden histamin ve serotonin salınımına ve trombosit agregasyonuna neden olur ve histamine benzer şekilde inflamasyon bölgesinde kapiller permeabiliteyi artırır (33, 37).

#### 2.2.1.2. Araşidonik asid metabolitleri (Eikozanoidler)

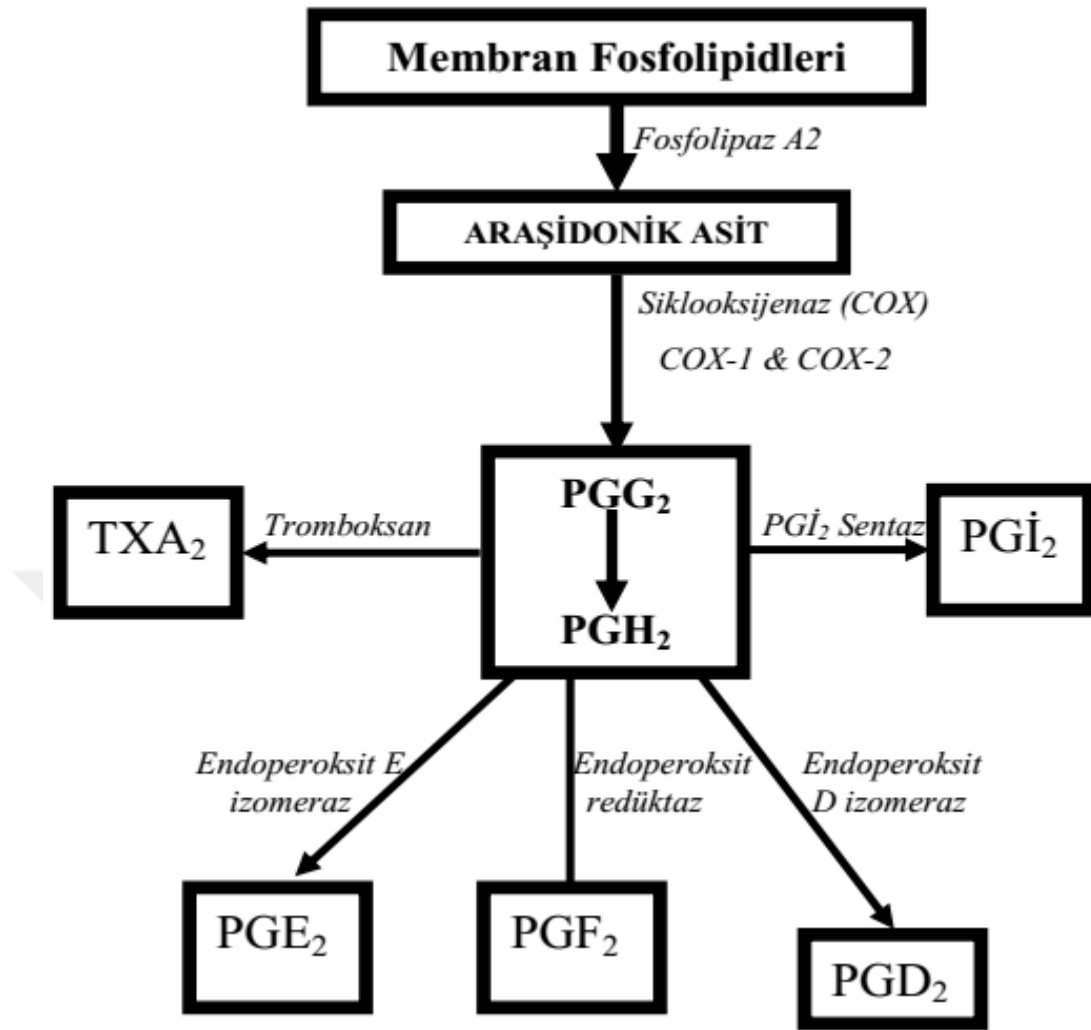
Araşidonik asit (AA), hücre membranındaki fosfolipidlerde bulunan çoklu doymamış bir yağ asitidir. Mekanik, fiziksel ve kimyasal uyarılar veya kompleman elemanları (C5a) gibi inflamatuvar mediatörlerin etkisiyle aktive olan fosfolipaz A2 enzimi, membran fosfolipidlerini hidroliz ederek araşidonik asitin salınımını sağlar. Araşidonik asit metabolitleri (eikozanoidler) güçlü biyolojik etkinlik gösteren endojen maddelerdir. İnflamasyon sürecinde oluşan eikozanoidlerin başlıca kaynağı lökositler, mast hücreleri, endotel hücreleri ve plateletlerdir. Eikozanoidler, araşidonik asitten oluşmalarında rol oynayan enzim türüne göre siklooksijenaz ürünleri ve lipooksijenaz ürünleri şeklinde iki ana gruba ayrılırlar (Şekil 4). Bu

grupların fizyolojik ve patolojik olaylara katkıları ve çeşitli sistem ve organlara etkileri bakımından aralarında belirgin farklar vardır (37-39).



Şekil 4. Araşidonik asit metabolitleri.

**-Siklooksijenaz (COX) ürünleri (Prostanoidler):** Araşidonik asitten prostanoidlerin oluşması iki basamakta gerçekleşir (Şekil 5). Birinci basamakta COX enzimleri (COX-1 ve COX-2 = prostaglandin endoperoksit H sentaz enzimi) aracılığıyla AA'ten prostaglandin (PG) endoperoksit PGG<sub>2</sub> oluşur. Daha sonra PGG<sub>2</sub>, peroksidaz etkisiyle PGH<sub>2</sub>'ye dönüşür. İkinci basamakta ise kararsız olan PGH<sub>2</sub> spesifik dokularda spesifik enzimlerle prostanoidlere dönüşürken, trombositlerde tromboksan sentaz enzimi tarafından tromboksanlara (TXA<sub>2</sub>, TXB<sub>2</sub>) dönüşür (39-41).



Şekil 5. Siklooksijenaz ürünleri.

Prostaglandin D<sub>2</sub>, E<sub>2</sub> ve F<sub>2</sub>'ler doğrudan doğruya siklik endoperoksit ara ürünlerinden oluşurlar. PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, ve PGF<sub>2</sub>'lere primer PG'ler adı da verilir. Primer PG'ler inflamasyonda anahtar mediatör olarak rol oynarlar. PGD<sub>2</sub> grubu sadece trombositlerde ve mast hücrelerinde bulunur (39).

Prostanoidlerin otokrin ve parakrin fonksiyonları vardır ve G-proteini reseptörü ile etkileşerek ya ana hücrede ya da yakınındaki komşu hücrelerde etki gösterirler. Damar endotelinde bulunan prostasiklinin (PGI<sub>2</sub>) AA'ten oluşumu esas olarak COX-2 enzimi tarafından katalize edilir. PGI<sub>2</sub> trombositlerin agregasyonunu ve adhezyonunu önler. Ayrıca kardiyovasküler sistemde de çok güçlü bir vazodilatör etkiye sahiptir. Araşidonik asitten TXA<sub>2</sub> oluşumu esas olarak COX-1 enzimi tarafından katalize edilir. TXA<sub>2</sub> trombositleri aktive ederek onların agregasyonuna ve adhezyonuna ve damar permeabilitesini artırarak ödeme neden olur. TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>'nin



aksine vazokonstriktör etkiye sahiptir. TXA<sub>2</sub> bronşlarda bronkokonstriktör etki gösterirken, PGI<sub>2</sub> ve PGE<sub>2</sub> bronkodilatör etki gösterirler. PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> ve özellikle PGI<sub>2</sub> midede bikarbonat salınımı ve kan akımını artırarak gastrik mukozanın korunmasını sağlarlarken, PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> ise böbreklerde renal kan akımını ve idrar atılımını (diurez) artırır (39, 41). İnflamatuar uyarı ile indüklenen COX-2 kronik inflamasyonda yüksek prostanoid seviyelerinden sorumludur ve aynı zamanda trombosit-endotel hücre etkileşiminde endotel hücrelerinden prostasiklin üretimini de artırmaktadır (37, 38, 42).

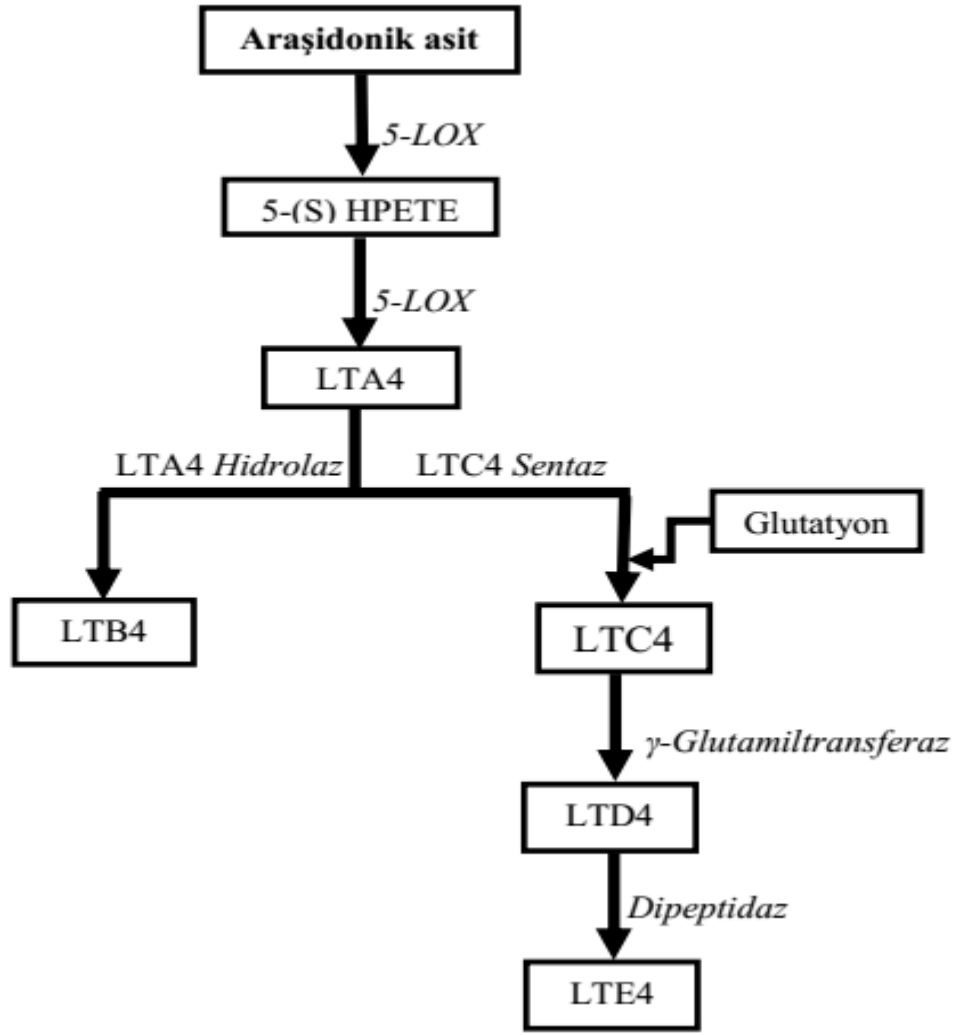
Prostanoidler, ayrıca doku hasarında ve inflamasyonda vücudun cevap vermesine aracılık ederler. PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> histamin veya bradikinin gibi otokoidler ile sinerji oluşturarak kuvvetli vazodilatör etki gösterirler. İnflamasyonlu bölgelerde sinerjistik etkileriyle kapiller kan akışını artırarak inflamasyona katkıda bulunup, damar permeabilitesini artırır. Aynı zamanda duyuşal liflerdeki periferal sinir uçları duyarlılaştırarak hiperaljeziye neden olurlar. PGE<sub>2</sub> nöronları da etkiler ve sistemik yanıtlarıyla ateş, yorgunluk ve ağrıda aşırı duyarlılığa yol açabilmektedir (43). PGE'ler; lokal uygulandıklarında damar permeabilitesini artırır, kızarıklık, ödem ve ağrı gibi belirtilere neden olurlar. Ayrıca, inflamasyonlu dokuda salıverilen histamin, serotonin ve bradikinin gibi otokoidlerin etkilerini potansiyalize ederler ve prostanoidler arasında en güçlü proinflamatuvar ve hiperaljezik etkiye sahip olanlardır (38, 41, 44, 45).

Stabil olmayan bir ara-ürün olan TXA<sub>2</sub>, güçlü bronkokonstriktör etkinliğe sahiptir ve hızlı bir şekilde TXB<sub>2</sub>'ye dönüştürülür. Esas olarak TXA<sub>2</sub> trombositlerde COX-1 enzimi ile sentezlenir, ayrıca makrofajlar ve diğere bazı hücrelerde de COX-2 enzimi ile sentezlenmektedir. TXA<sub>2</sub>'nin etkisi reseptörü aracılıyla meydana gelir; reseptörünün aktivasyonu trombositlerin adezyonu ve agregasyonuna, düz kasların kasılmasına ve proliferasyonuna ve endotelial inflamatuvar yanıtın aktivasyonuna neden olmaktadır (39, 46, 47).

**-Siklooksijenaz enzimleri:** siklooksijenaz enzimleri konstitutif (COX-1) ve indüklenebilir (COX-2) olmak üzere ikiye ayrılır. COX-1 ve COX-2 aynı reaksiyonları katalize ederse de farklı yapı ve fonksiyonlara sahiptir. COX-1 dokularda koruyucu etki gösterir; böbrek ve gastrointestinal sistem (GİS)de platelet agregasyonu ve homeostazis gibi fizyolojik koruyucu fonksiyonların düzenlenmesinde etkiliyken, COX-2 enzimi bunların zıttı etki yapar. COX-2 sağlıklı

insanlarda az miktarda bulunur. Sitokinler, büyüme faktörleri, tümör nekroz ajanlar, bakteriyel endotoksin gibi proinflamatuvar stimulanlar inflamasyonlu hücrelerde hızla COX-2'nin ekspresyonuna neden olurlar. COX-2 ürünü olan PG'ler inflamatuvar reaksiyonlarda major rol oynar ve kızarıklık, ateş, şişlik, ağrı ve fonksiyon kaybı gibi karakteristik inflamatuvar semptomlardan sorumludurlar (39,41, 48).

- **Lipooksijenaz (LOX) Ürünleri (Lökotrienler-LT):** LOX, bitki ve hayvanlarda bulunan lipid peroksidaz enzimidir. Şimdiye kadar insanda üç majör izoenzim bulunmuştur. Bunlar araşidonik asit oksidasyonunun konumlarına göre sınıflandırılan 5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX'dur. Bunlar, araşidonik asit molekülünün sırasıyla C-5, C-12 ve C-15 konumlarına oksijen bağlarlar ve yine sırasıyla 5-hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE), 12-HPETE ve 15-HPETE oluştururlar. Bunlar esas olarak nötrofil, makrofaj ve mast hücresi gibi inflamatuvar hücrelerden sentezlenirler (6, 35). 5-LOX enzimi, araşidonik asidin ikinci majör yolağında kuvvetli proinflamatuvar mediatörlerin (lökotrienler) sentezlenmesinde rol oynar. 5-LOX, lökotrienlerin biyosentezinin ilk iki basamağını katalize eder. İlki araşidonik asitin C-5 konumunun oksidasyonu ile 5-HPETE oluşmasını, ikincisi dehidratasyon sonucu hidroperoksit yapısında LTA<sub>4</sub> oluşumuna öncülük eder. Stabil olmayan bu epoksit ya LTA<sub>4</sub> hidrolaz tarafından enzimatik hidrolize uğrayarak dihidroksiasit LTB<sub>4</sub>'e dönüşür ya da LTC<sub>4</sub> sentaz tarafından glutatyon ile konjüge olarak LTC<sub>4</sub>'ü oluşturur. Bu son bileşik (LTC<sub>4</sub>) bir  $\gamma$ -glutamil transferaz enzimi tarafından bir glutatyon elimine ederek LTD<sub>4</sub>'e dönüşür. Son basamakta ise LTD<sub>4</sub> özellikli bir dipeptidaz enzimi tarafından glisinin uzaklaştırılmasıyla LTE<sub>4</sub>'e metabolize olur. LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub> bileşikleri sisteinil veya peptido lökotrienler olarak da bilinirler (Şekil 6) (39, 41).



**Şekil 6.** Lipooksijenaz ürünleri.

Prostanoidlerin aksine LT'ler çoğunlukla inflamasyon hücreleri tarafından üretilir. Bununla birlikte 5-LOX spesifik olarak myeloid hücrelerinde üretilirken, LTA4 hidrolaz ve LTC4 sentaz vücutta geniş ölçüde dağılmıştır. LTA4 hidrolaz özellikle bağırsaklar, dalak, akciğer, böbrek ve eritrositlerde fazlaca bulunur. LTC4 sentaz ise mast hücrelerinde, bazofillerde, eozinofillerde, endotel hücrelerinde ve trombositlerde üretilir. Bu iki enzimin geniş dağılımı, transellüler metabolizmanın gerçekleşmesine olanak verir. LTA4 ekstrasellüler boşlukta olduğu zaman daha ileri metabolizasyon yapabilecek enzimler içeren (LTA4 hidrolaz ve LTC4 sentaz) başka bir hücreye gönderilebilir. Örneğin PMNL' ler tarafından üretilen LTA4, eritrositlerde LTB4'e dönüştürülebilir. Bu farklı hücre tipleri arasındaki enzimatik

etkileşmeler LT'lerin biyosentezini ve bu nedenle onların patofizyolojik etkilerini artırır (39, 41).

Lökotrienler G proteine bağlı reseptörlerin aracılık ettiği geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptirler (49). LTB4 nötrofil, makrofaj ve eozinofil gibi inflamatuvar hücreleri için kuvvetli bir kemotaktik ajandır. İnflamasyonlu bölgelere doğru lökosit göçüne neden olur. Nötrofillerin harekete geçirilmesiyle, özellikle superoksit radikallerini oluşturarak enzim salınımı ile ortak degranulasyona neden olurlar. Aynı zamanda nötrofillerin vasküler endotelde adezyonunu artırır ve onların dokulardan infiltrasyonunu yükseltirler. Sonuçta makrofaj ve lenfositlerden proinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlayarak immun reaksiyonlarda önemli rol oynarlar (41, 50). Sisteinil LT'ler olarak tanımlanan LTC4, LTD4 ve LTE4, anaflaksi olayının yavaş reaksiyonuna neden olan maddelerdir ve biyolojik fonksiyonları şunlardır;

- Hızlı gelişen aşırı duyarlılık reaksiyonlarının patofizyolojisinde rol oynarlar,
- Düz kaslarda güçlü kasılmaya neden olurlar (histaminden 100-1000 kat daha kuvvetlidir), özellikle hava yollarında şiddetli bronkospazm yaparlar,
- Mukus sekresyonunu artırır ve bronşiyal düz kas hücrelerinin çoğalmasında önemli rol oynarlar,
- Mikrovasküler sistemde, endotel hücrelerini kasarak vasküler permeabilityyi artırarak plazmanın hücre dışına çıkmasına ve ödem oluşumuna neden olurlar,
- Ayrıca eozinofillerin kemotaktik özellik kazanmasını sağlarlar.

Yapılan çalışmalarda, sisteinil LT'lerin duyuşal liflerle etkileşebileceği gösterilmiş, taşikininlerin salınımının artırdıkları ve onların duyarlılığında değişimlere neden oldukları tespit edilmiştir. Bu güçlü biyolojik aktivitelerinden dolayı LT'lerin romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, ülseratif kolit, astım, psöriasis ve alerjik rinit gibi çok sayıdaki inflamatuvar hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (38, 41, 51-53).

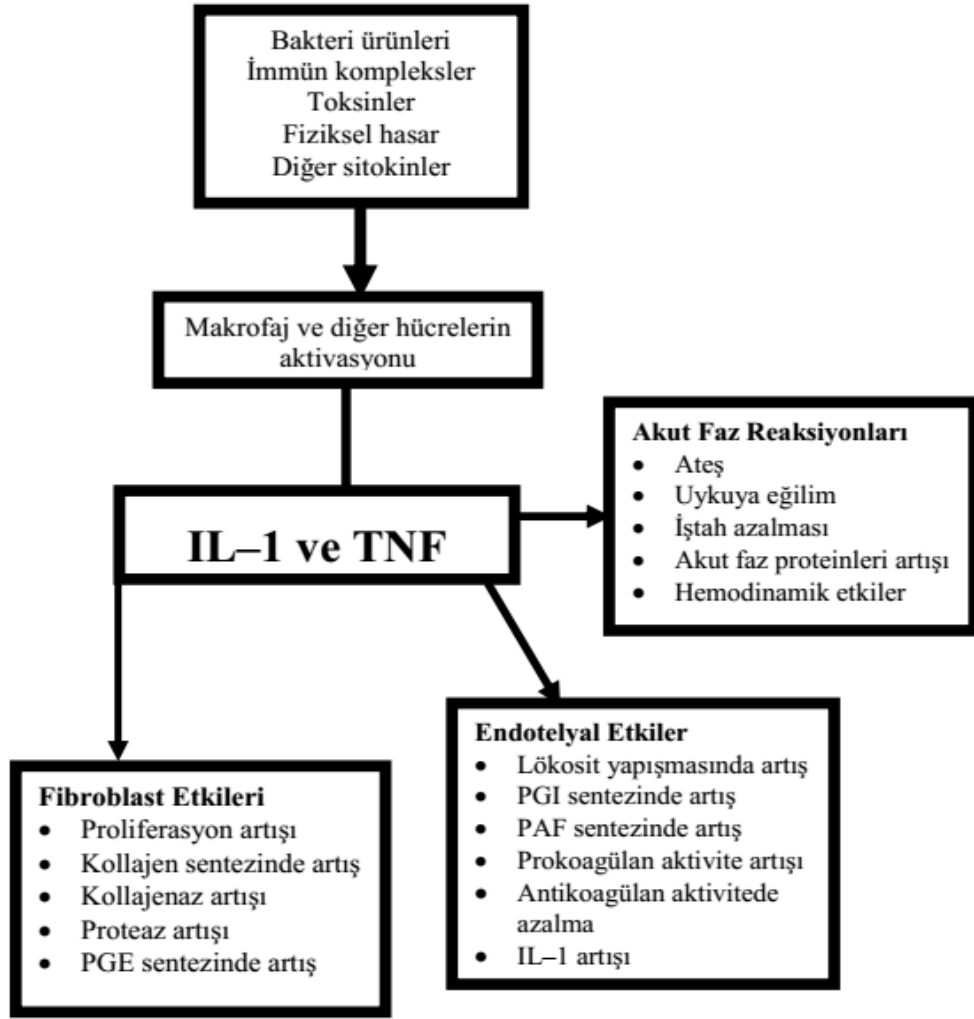
### 2.2.1.3. Trombosit aktive eden faktör (TAF)

Antijenle uyarılmış nötrofil, bazofil, monosit ve çeşitli endotel hücrelerinden açığa çıkan ve trombositlerin toplanmasına ve içeriklerinin salınmasına sebep olan bir mediatördür (54). TAF trombositlerin stimülasyonuna ilave olarak artan vasküler geçirgenliğe, lökosit toplanmasına ve adezyonuna, kemotaksise ve bir seri

hemodinamik değişikliklere neden olur. Lökositler üzerinde ise PG ve LT gibi mediatörlerin üretimine neden olarak vasküler geçirgenliği artırabilir (6, 7, 55).

#### 2.2.1.4. Sitokinler

Sitokinler pek çok hücrenin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan mediatörlerdir. Pro-inflamatuvar sitokinler, aktive edilmiş lenfositler ve makrofajlar başta olmak üzere birçok hücrede sentezlenirler ve immün sistemi aktive ederler. Zararlı uyarılara ve inflamatuvar reaksiyonlara karşı erken ve sonrasındaki adaptif (spesifik) immün cevapta çeşitli sitokinler yer almaktadırlar (30, 56). Akut inflamasyonun başlıca sitokinleri tümör nekroz faktörü (TNF), interlökin-1 (IL-1) ve kemokin olarak isimlendirilen kemoatraktan sitokin grubudur. IL-1 ailesinin (IL- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 ve IL-33) ve TNF'nin farklı yönde etkileri vardır. TNF ve IL-1 aktif makrofajlar yanında mast hücresi, endotel hücresi ve çeşitli hücrelerde sentezlenir. Sekresyonları bakteriyel endotoksin, immün kompleks ve adaptif immün cevap sırasında üretilen T lenfosit ürünleri ile uyarılır. Bu sitokinlerin başlıca rolü endotel aktivasyonudur ve endotel hücresindeki adezyon moleküllerinin salınımını uyarır, böylece lökositlerin oraya göç etmesini ve bağlanmasını artırır (Şekil 7). Sitokinler fibroblastlardan prostaglandin E2 gibi diğer inflamatuvar mediatörlerin sentezini de uyarırlarken, TNF ayrıca damar endotelinin trombojenitesini artırır ve nötrofillerin agregasyonuna ve aktivasyonuna neden olur. IL-1 doku fibroblastlarını aktive ederek ekstrasellüler matriksin proliferasyonu ve yapımını artırır. TNF ve IL-1 inflamasyon bölgesindeki makrofaj ve diğer hücrelerden salındığı gibi, dolaşıma girerek sistemik etkiler de sergileyebilirler ve sıklıkla inflamasyon ve iltihabi hastalıklarda görülen sistemik akut faz reaksiyonuna neden olabilirler. Bu reaksiyonun komponentleri ateş, letarji, karaciğerde çeşitli akut faz proteinlerinin sentezi, metabolik yıkım (kaşeksi), dolaşıma nötrofil salınımı ve adrenokortikotrop hormonların (kortikosteroid sentez ve salımı dahil) artışıdır (24, 31, 57, 58).



Şekil 7. İnflamasyonda TNF ve IL-1' in başlıca etkileri.

### 2.2.2. Plazma kaynaklı mediatörleri

İnflamasyon reaksiyonunda oldukça önemli rol oynayan ve birbiriyle ilişkili üç sistemin (kompleman, kinin ve pıhtılaşma) proteinleri kan dolaşımında bulunmaktadır. Kompleman, kinin ve pıhtılaşma sistemleri, Hageman faktörü ile aktive edilen birbiri ile karşılıklı ilişki halinde olan sistemlerdir. Bu sistemlerin inflamasyon yanıtında çok önemli rol oynadığı bilinmektedir (23).

### 2.2.2.1. Kompleman sistemi

Kompleman sistemi, vücudun savunma sisteminde (bağışıklık sisteminde) ve inflamasyonda önemli rol oynayan plazma proteinlerinden oluşur. Bu sistemin aktivasyonu ile farklı kompleman proteinleri fagositoz ve yıkım için mikroorganizmalar gibi partiküllerini kaplar, vasküler geçirgenliği ve lökosit kemotaksisini arttırarak inflamatuvar yanıtta katkıda bulunur. Ayrıca, kompleman sisteminin aktivasyonu sonucunda, işgalci mikropların membranlarındaki gözeneklere benzeyen bir membran atak kompleksi (MAC) üretilir ve bu kompleks mikroorganizmaların ölümüne yol açar (59, 60).

Kompleman sisteminin komponentleri (C1-C9) plazmada inaktif halde bulunur, birçoğu proteoliz ile aktive edilir ve kendileri de proteolitik aktivite kazanarak enzimatik kaskadı oluştururlar. Aktif kompleman ürünlerin üretilmesinde kritik adım C3 komponentinin aktivasyonudur. Aktive edilmiş kompleman sistemin komponentleri akut inflamasyonda çeşitli olayları tetikleyebilir. C3a ve C5a, mast hücrelerinden histamin salınımı arttırarak vasküler geçirgenliği arttırırlar ve vazodilatasyona neden olurlar. C5a nötrofiller ve makrofajlardaki AA metabolizmasının LOX yolağını aktive eder ve daha fazla inflamatuvar mediatörlerin salınmasına yol açar. Ayrıca, C5a, lökositleri aktive eder, endotele olan yapışmalarını arttırır ve nötrofiller, monositler, eozinofiller ve bazofiller için de güçlü bir kemotaktik ajandır (33, 60-63).

### 2.2.2.2. Kinin sistemi

Kinin sisteminin aktivasyonu, plazmada yüksek moleküler ağırlıklı kininojenlerden bradikinin oluşumuna yol açar. Bradikin, histamin gibi vasküler permeabiliteyi arttırır, arteriolarda dilatasyon yapar ve bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olur. Ayrıca deriye enjekte edildiğinde C liflerinin uyarılması ile ağrıya ve hiperaljeziye neden olur. Ayrıca, kininler TNF stimülasyonu ile IL-1 üretimini arttırırlar ve fosfolipaz A2 ve araşidonik asit salınımı ile prostanoid üretimini arttırabilirler. Kallikrein ise, kinin kaskadının bir ara ürünüdür, kemotaktik aktiviteye sahiptir, Hageman faktörünün güçlü bir aktivatörüdür ve kinin ile pıhtılaşma sistemleri arasındaki diğer bir bağlantıyı oluşturur. Kininlerin

etkileri kısa ömürlüdür, çünkü plazma ve dokulardaki kininazlar tarafından hızla inaktive edilirler (6, 27, 64, 65).

### 2.2.2.3. Pıhtılaşma ve fibrinolitik sistemi

İnflamasyonda dolaşan mediatörlerin yapımındaki esas olay Hageman faktörünün aktivasyonudur. Aktive olmuş Hageman faktörü (faktör XIIa) inflamatuvar cevapta yer alan dört sistemi uyarır (Şekil 8):

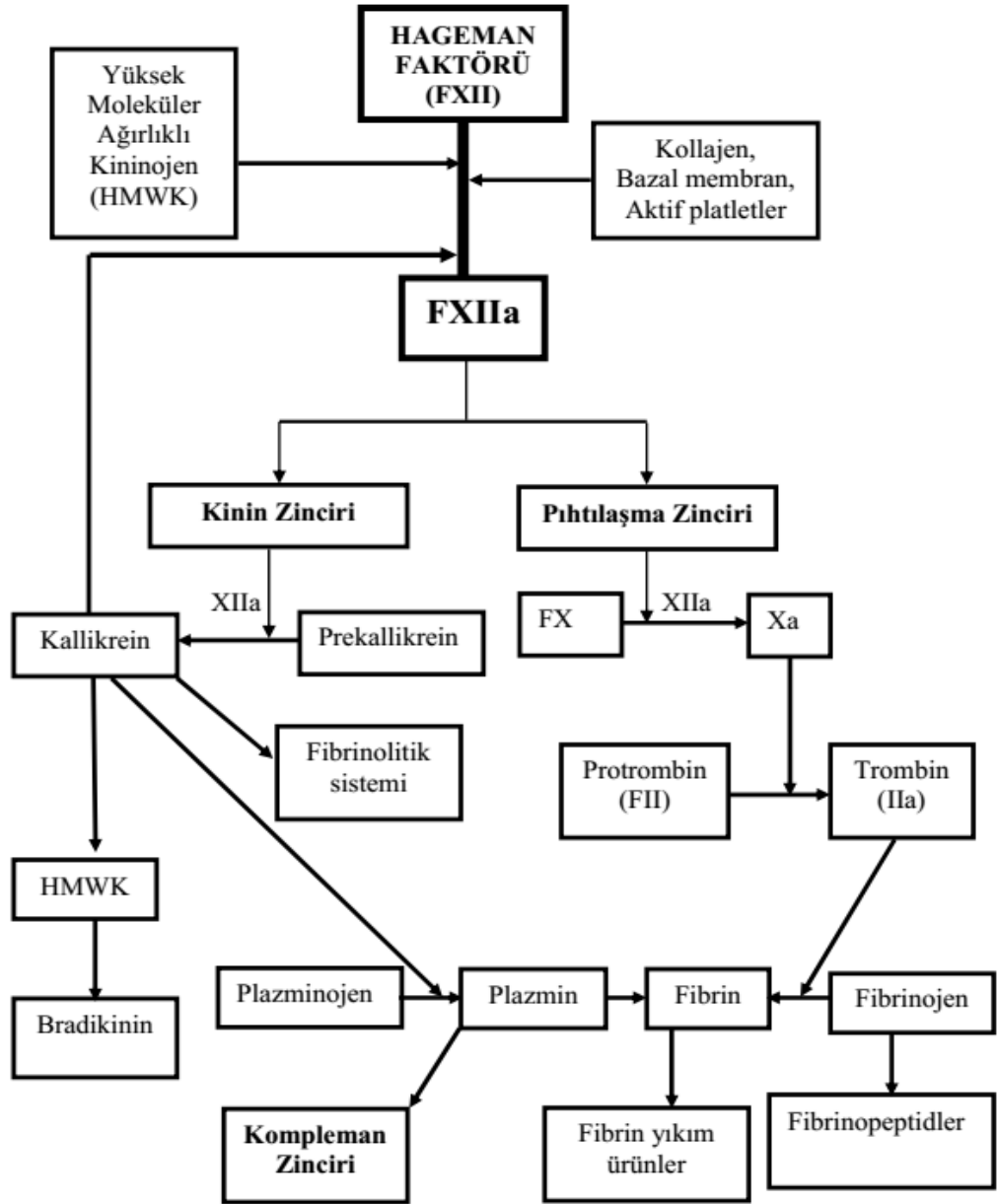
- Kinin sistemi: Vazoaktif kininlerin oluşumuna neden olur.
- Pıhtılaşma sistemi: İnflamasyonda etkili olan trombin, fibrinopeptid ve faktör X'u aktive eder.
- Fibrinolitik sistem: Plazmin oluşumunu uyarır ve trombinin inaktive olmasına neden olur.
- Kompleman sistemi: Kompleman fragmanlarından C3a ve C5a'nın yapımını artırır.

Hageman faktörü karaciğerde sentezlenen bir proteindir ve endotel hasarı olan bölgede kollajen, bazal membran veya aktif plateletlerle karşılaşana kadar inaktif halde dolaşır. Yüksek moleküler ağırlıklı kininojen (HMWK) kofaktörü ile şekil değiştirir ve kinin ve pıhtılaşma sistemindeki çok sayıda proteini parçalayan aktif serin merkezi ortaya çıkar. Pıhtılaşma sisteminde proteolitik zincirdeki faktör XIIa trombini aktive eder, bu da dolaşan solübl fibrinojeni fibrine dönüştürür. Ayrıca, trombin endotel hücresi, platelet ve diğer hücre tiplerinde yer alan PAR reseptörlerine bağlanarak inflamasyon olayına katılır. Endotel hücrelerindeki reseptörlere bağlanan trombin, onların aktivasyonu ve lökosit adezyonunda artışa neden olur. Ayrıca, fibrinojenin fibrine dönüşümünde ortaya çıkan fibrinopeptidler vasküler permeabilityi artırır ve lökositler için kemotaktik etkiye sahiptirler (23, 66).

Aktif Hageman faktörü pıhtılaşmayı artırırken, aynı zamanda fibrinolitik sistemi de aktive eder. Bu mekanizma ile fibrin parçalanarak pıhtılaşma olayı sınırlanmış olur. Fibrinoliz ve diğer düzenleyici mekanizmalar olmadığında, basit bir hasar ile başlayan pıhtılaşma zinciri, tüm damarlarda pıhtılaşma ile sonuçlanabilirdi. Endotel, lökosit ve diğer dokulardan salınan plazminojen aktivatörü ve kallikrein fibrin pıhtısı içinde bağlı bulunan ve bir protein olan plazminojeni plazmine parçalarlar. Ortaya çıkan plazmin, fibrini parçalayan multifonksiyonel bir proteazdır



ve pıhtının eritilmesinde önemlidir. Fibrinoliz, inflamasyonun vasküler kısmının değişik kademelerinde etkilidir. Örneğin, fibrin yıkım ürünleri ile vasküler permeabilite artarken, plazmin ile C3 kompleman proteininden C3a yapılır, bu da vazodilatasyon ve vasküler permeabilite artışına yol açar. Ayrıca, plazmin Hageman faktörünü aktive ederek inflamasyon cevabını güçlendirir (23; 33).



**Şekil 8.** Aktive edilmiş Hageman faktörü ile tetiklenen kinin sistemi, pıhtılaşma sistemi, fibrinolitik sistemi ve kompleman sistemi arasındaki karşılıklı ilişki.

### 2.2.3. Reaktif oksijen ve nitrojen ara ürünleri

Reaktif oksijen ürünlerin (ROS) inflamatuvar hastalıkların ilerlemesinde önemli rol oynayan sinyal moleküller oldukları bilinmektedir. ROS genellikle inflamasyon bölgesindeki PMNL'ler tarafından üretilir, endotelial disfonksiyona ve doku hasarına neden olurlar. Ayrıca, ROS'ların vasküler endotel makromoleküllerin ve inflamatuvar hücrelerin kandan dokuya geçişlerinde önemli rol oynadıkları da bildirilmektedir (67).

Reaktif ara ürünlerin üretimi ve salınımı, mikrobiyal ürünleri, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) ve IL-8 gibi sitokinler ve immün sistem hücreleri tarafından başlatılabilir. Bu olaylar, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enzimin aktivasyonuna neden olur ve bu enzimin aktivasyonu hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, hipokloröz asit ve kloraminlerin artışına neden olan süperoksit üretimine yol açar (27, 67, 68).

Nitrik oksit (NO) L-argininden nitrikoksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. Bu enzimin 3 izoformu bulunmaktadır: nöronal NOS (nNOS veya NOS1), endotelial NOS (eNOS veya NOS3) ve makrofaj kaynaklı NOS (iNOS, veya NOS2). Makrofaj kaynaklı NOS, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  gibi inflamatuvar sitokinler tarafından indüklenir ve inflamatuvar olaylarda önemli ölçüde NO üretilmesine neden olur. NO'nin süperoksit radikali ile reaksiyona girerek güçlü reaktif nitrojen ürünlerin oluşmasına ve doku hasarına yol açtığı gösterilmiştir (69).

### 2.3. İnflamasyon ve Pıhtılaşma

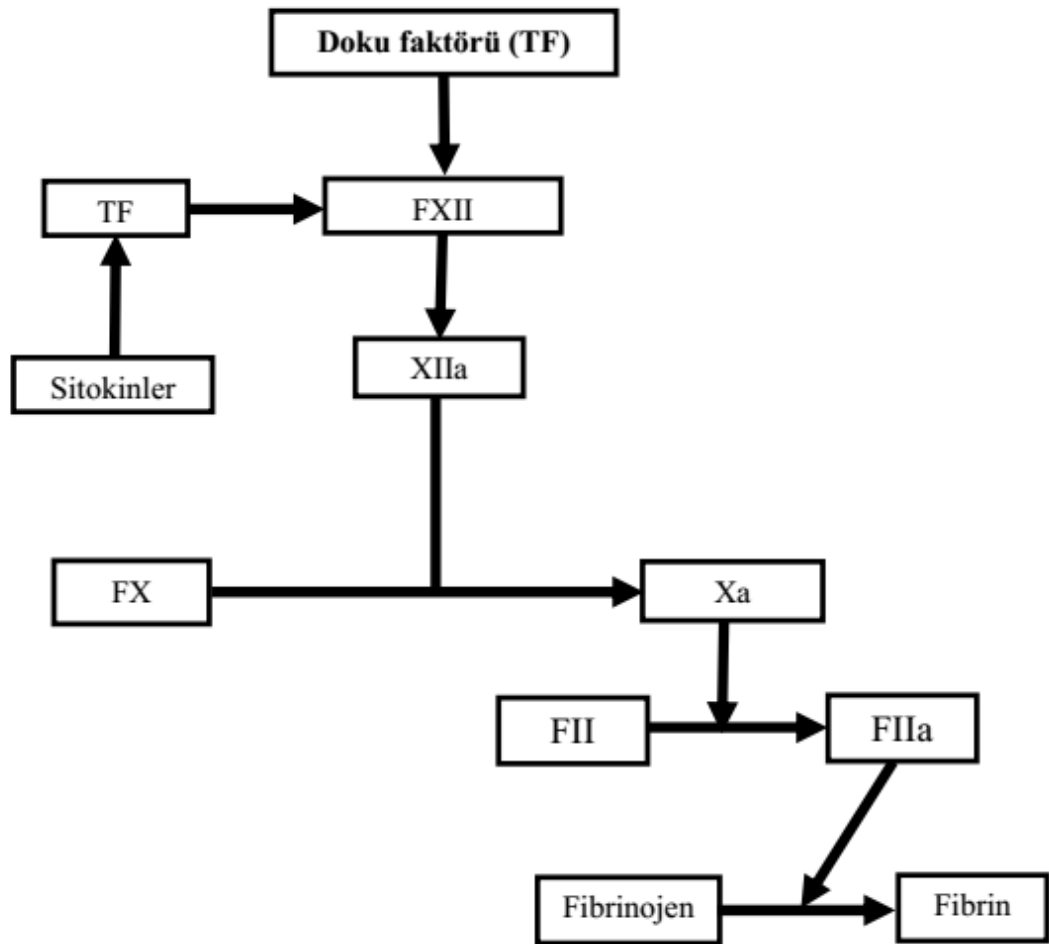
Pıhtılaşma ve inflamasyon olayları birbiri içine geçmiş süreçlerdir. Pıhtılaşma ve inflamasyon arasındaki etkileşim iki yönlüdür (9, 70, 71):

- İnflamasyon kaynaklı pıhtılaşma,
- Pıhtılaşma kaynaklı inflamasyon

İnflamasyon olayının, pıhtılaşma olayını artırarak, doğal antikoagülan mekanizmaları azaltarak ve fibrinolizi inhibe ederek pıhtılaşmaya neden olduğu bildirilmiştir (70, 72, 73).

İnflamasyon ile pıhtılaşma sistemi arasındaki bağlantıyı doku faktörü (TF) tarafından indüklenen trombin oluşturur. İnflamasyonun monositler, makrofajlar ve endotel hücrelerinde doku faktörü sentezini artırdığı gösterilmektedir. Ayrıca,

endotoksin ve proinflamatuvar sitokinler (özellikle interleukin-6) TF'nin ekspresyonunu artırır. Meydana gelen TF, Hageman Faktör (FXII)'e bağlanarak faktör X (FX)'u aktive eder. Aktive edilmiş FXa, aktive olmuş FVa ile etkileşerek, endotel hücreler ve monositler yüzeyinde protrombinaz kompleks oluşumuna neden olur. Bu kompleks protrombinden trombin oluşumuna yol açar (Şekil 9) (11). Trombin, proteaz ile aktive edilen reseptörlere bağlanarak proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6, ve TNF- $\alpha$ ) üretimini ve sekresyonunu artırdığı bilinmektedir. Ayrıca, trombinin endotel hücreleri, monositler ve nötrofilde p-selektin ekspresyonuna yol açtığı da gösterilmiştir (10, 71, 74,75).



**Şekil 9.** Doku faktörün FXa, FXIIa ve fibrin oluşundaki rolü.

## 2.4. Antiinflamatuvar Aktivite Testinde Kullanılan Yöntemler

Anti-inflamatuvar aktivitenin olup olmadığını ve gücünü ölçmek amacıyla kullanılan birçok deneysel model mevcuttur. Anti-inflamatuvar aktivite testleri, temelde deney hayvanının arka pençesine, kulak kepçesine, sırt altı derisine, plevra, periton veya mesane içerisine inflamatuvar bir ajan ile inflamasyon oluşturularak yapılmaktadır. Oluşan inflamasyona karşı antiinflamatuvar etkinliği olduğu varsayılan madde verilerek, bu maddenin antiinflamatuvar etkisinin olup olmadığı test edilir ve bu madde antiinflamatuvar etki gösterirse, bilinen bir antiinflamatuvar ajanla kıyaslanarak, yeni maddenin etkinliği değerlendirilmiş olur (76). Deneysel çalışmalarda kullanılan bu testler, akut ve kronik antiinflamatuvar testleri olmak üzere ikiye ayrılır:

### 2.4.1. Akut anti-inflamatuvar testleri

**Pençe ödemi testi:** Karragenin, histamin, serotonin, formaldehit, asetik asit, gibi inflamatuvar kimyasal ajanların, genellikle hayvanların (sıçan, fare) arka pençelerine lokal olarak uygulanması ile oluşturulan bir yöntemdir (77,78). Bu kimyasal ajanlardan lambda-karragenin en sık kullanılan ve en çok tercih edilendir (77).

**Kulak kepçesi ödemi:** Araşidonik asit, forbol miristat asetat (PMA), kroton yağı gibi inflamatuvar maddelerle farelerin kulak kepçesinde inflamasyon oluşturulur. Bu yöntem, ikinci sıklıkta kullanılan bir metodudur (79).

**Farelerde peritoneal damar permeabilite artışı testi:** Antiinflamatuvar aktivite gösteren bir maddenin inflamasyona bağlı olarak damar permeabilitesini ve makrofaj göçünü ne derecede bloke ettiğini araştırmak için kullanılan deneysel bir metottur. Bunun için Evans mavisi boya intravenöz yolla deney hayvanlarına uygulanır. Bu boyanın damarlardan periton sıvısına geçme derecesi spektrofotometre ile ölçülür. Ayrıca, bu bölgelerden alınan sıvı numunelerindeki makrofajlar sayılarak makrofaj göçü hakkında veri elde edilir (76).

**Karragenin ile oluşturulan plörezi:** Sıçanlara 3. ila 5. interkostal aralıktan karragenin solüsyonu enjekte edilir. Bu da plevrada inflamasyon oluşumuna yol açar

ve buna bağlı olarak inflamatuvar hücreler plevral aralığa göç eder. Daha sonra plevra sıvısındaki inflamatuvar hücreler incelenir (80).

**Sıçanlarda siklofosfamidle oluşturulmuş hemorajik sistit testi:** İntraperitoneal yolla sıçanlara 100 mg/kg dozda siklofosfamid verilerek mesane ödemi ve buradaki damar yataklarının permeabilite artışı esasına dayanır. Yaklaşık iki gün süren bir testtir (81).

#### **2.4.2. Kronik inflamasyon testi**

**Koton-pellet granüloma testi:** Kronik inflamasyon için sık kullanılan ve tercih edilen bir testtir. Deney, yaklaşık sekiz gün sürmektedir. Sterilize edilmiş pamuk bilyeler (koton-pellet), deney hayvanının interskapular bölgesi deri altı dokusuna yerleştirildikten bir hafta sonra etrafında oluşmuş granülom dokusu ile birlikte pamuk bilyeler çıkarılır ve 70-100 °C’de kurutulup tartılır. Tüm çalışma gruplarında koton-pelletlerin ağırlıkları karşılaştırılarak değerlendirme yapılır (82,83).

#### **2.5. Ağrının Tanımı ve Patofizyolojisi**

Ağrı, tanımlanması son derece zor ve tanımı üzerinde fikir birliğine varılmamış bir kavramdır. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Birliği (IASP) ağrıyı; “*vücudun herhangi bir yerinden başlayan, organik bir nedene bağlı olan veya olmayan kişinin geçmişteki deneyimleri ile ilgili, sensoryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu*” olarak tarif etmiştir (84). Bu tanıma göre ağrı duyusu, hoşla gitmeyen yapıda olduğundan her zaman öznelidir. Bu nedenle ağrı değerlendirilirken fiziksel ve fiziksel olmayan bileşenler birlikte göz önünde bulundurulmalıdır. Ağrı çok boyutlu bir kavramdır, kişiden kişiye farklılıklar gösterir, çünkü psikolojik, cinsiyet, din, ırk, sosyokültürel çevre v.b. gibi pek çok faktör ağrı eşiğini ve ağrıya karşı oluşan yanıtı belirler. Ağrılı uyarana karşı oluşan bu yanıt, yaşamı boyunca maruz kalınan ağrılı uyarılarla kazanılır ve ağrının algılanmasında kişinin deneyiminin ve çevresinin etkileri vardır. Yani, aynı şiddetteki ağrılı bir uyarın, farklı kişilerde değişik şiddetlerde ağrı oluşturabilir veya aynı kişide farklı zamanlarda ve değişik şartlarda maruz kalınan aynı ağrı farklı şiddetlerde algılanabilir (85).

Ağrı, organizmayı ve dokuları hasara yönelik tehlikelere (çeşitli iç ve dış uyarılar) karşı ortaya çıkan bir duyu ve davranış şeklidir. Dokuda hasara neden olan uyarılar ve ağrı ile ilgili kişinin deneyimi arasında kimyasal ve elektriksel bir dizi karmaşık olaylar vardır. Organizmanın herhangi bir yerinde görülen zedelenme santral sinir sistemine (SSS) iletilmesi ve bu zedelenmeye karşı gereken önlemlerin harekete geçmesi olayı ağrının algılanmasıdır. Ağrıyı serbest sinir uçları algılar ve miyelinli A-δ, miyelinsiz C grubu sinir lifleri ile SSS'ine iletilir. Ağrıyı ileten serbest sinir uçları nosiseptör olarak adlandırılır. Nosiseptörlerin termal, mekanik ve kimyasal reseptörleri vardır; termal, mekanik ve kimyasal uyarılara cevap üretirler. Nosiseptörler, kemik, diş pulpası, deri, testis ve bilier sistemlerde bulunur (86,87).

Ağrı klinik olarak 2'ye ayrılmaktadır.

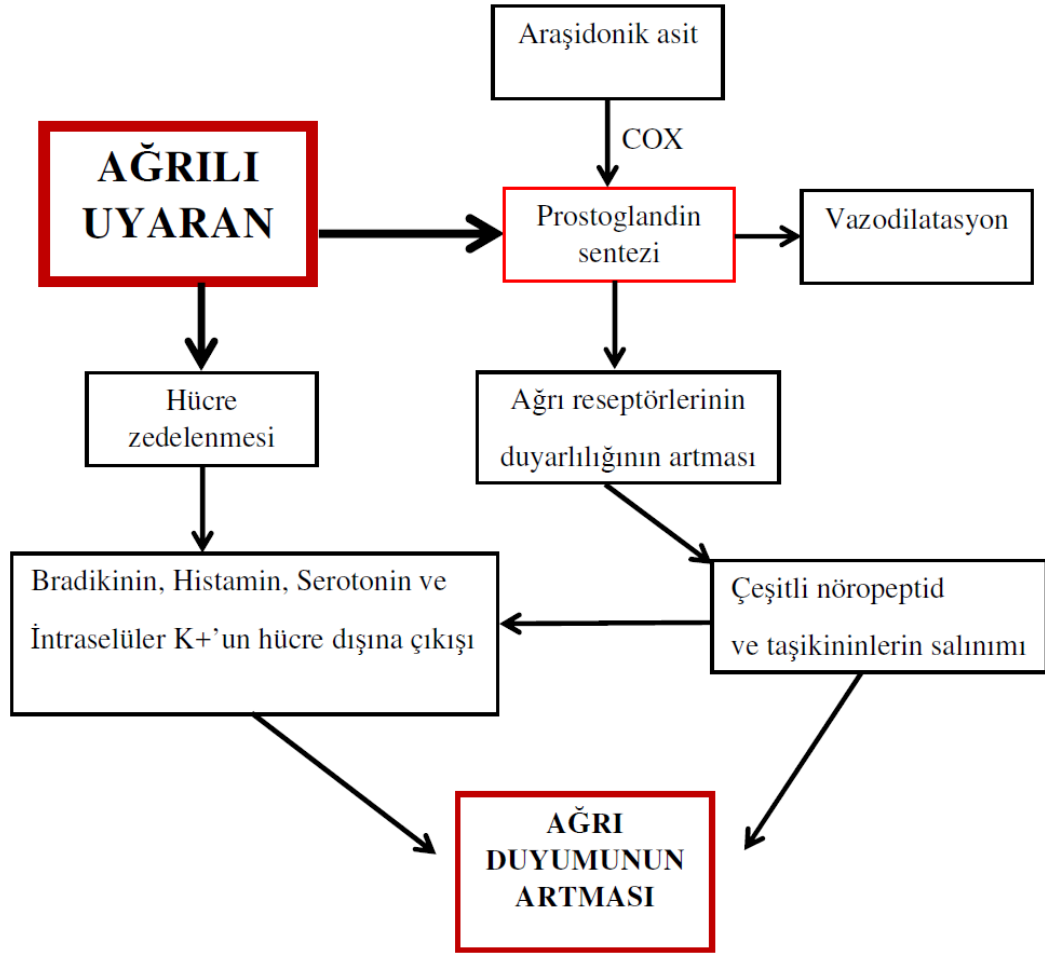
**-Akut ağrı;** başlangıcı genellikle 6 aydan kısa sürelidir, daima nosiseptif niteliktedir, neden olan hasar ile ağrı arasında zaman, yer ve şiddet bakımından yakın ilişki vardır. Postoperatif dönemde görülen ağrılar, akut ağrı için en iyi örnektir (88).

**-Kronik ağrı;** doku hasarı sonrasında oluşur, 6 aydan uzun sürer ve ağrının yeri, karakteri ve zamanı ile ilgili hasta yeterli bilgi veremez (88).

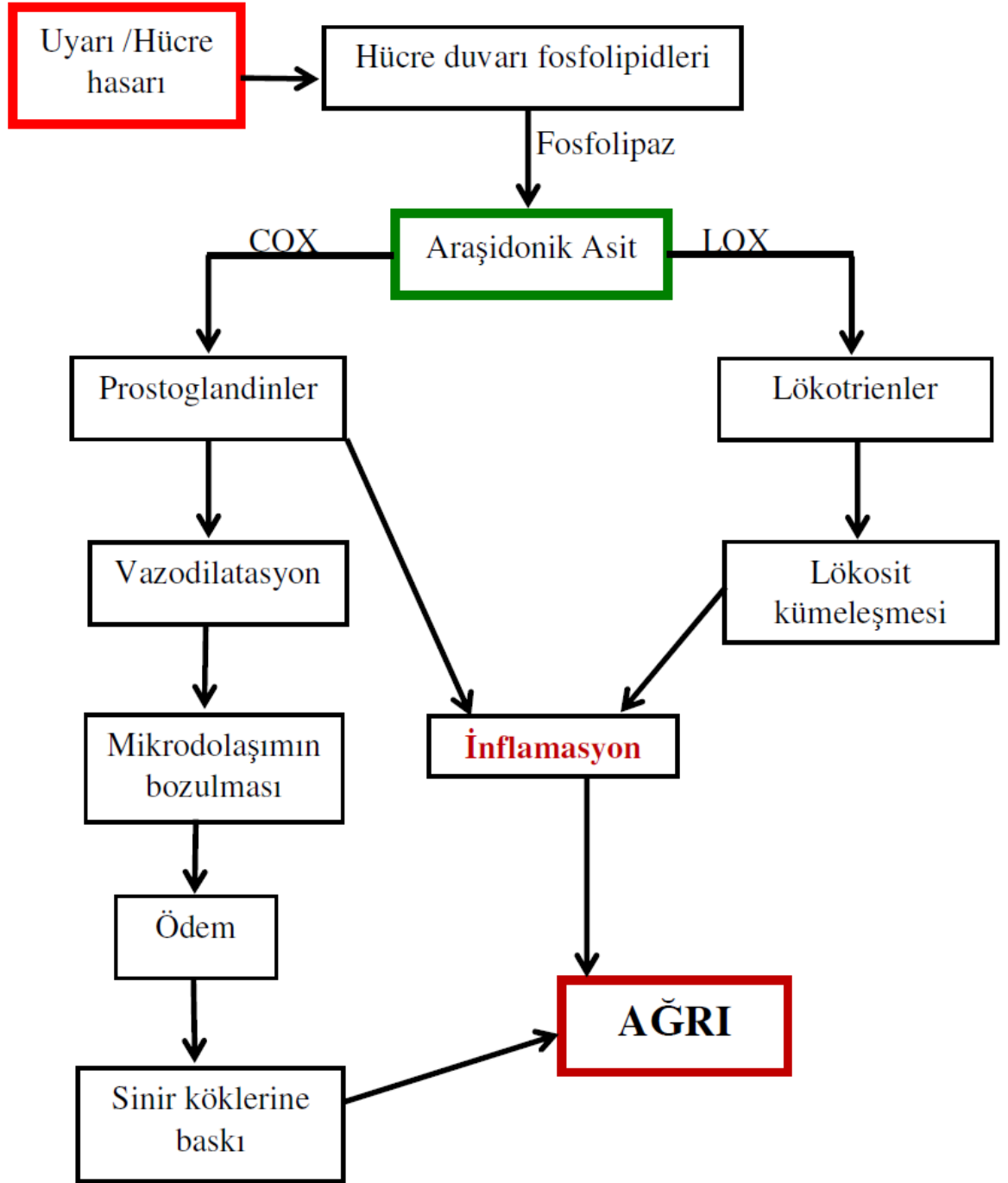
### 2.5.1. Ağrının kimyasal mediatörleri

Termal, mekanik ve kimyasal uyarılar sonucu oluşan hasarlı hücrelerden birçok algenik ve pro-inflamatuvar kimyasal mediatörlerin salınımına yol açarlar, bunlar sinir uçlarını uyarırlar ve bu uyarılar reseptörler tarafından algılanır (Şekil 10 ve Şekil 11). Bu mediatörlerden bazıları ve fonksiyonları şu şekildedir (89);

- Bradikinin: Plazma kininojenden üretilen A-delta ve C tipi lifleri direkt uyarıcı bir mediatördür. Ayrıca, prostaglandin sentezini ve salınımını da artırır.
- Serotonin: Trombositlerden salınır ve nosiseptörleri duyarlı hale getirir.
- Histamin: Mast hücreler, bazofil lökositler ve trombositlerden salınır. Nosiseptörleri duyarlı hale getirir.
- P maddesi: Hasarlı dokularda üretilen bir polipeptittir. Venülleri dilate eder, histamin salınımını artırır.
- Prostanoidler ve LT'ler: Hasarlı dokuların hücrelerinde sentezlenir. Ağrıya karşı duyarlılığı artırır.



Şekil 10. Ağrının kimyasal mediatörleri.



Şekil 11. Doku harabiyeti nedenli ağrı oluşması.



## 2.5.2. Hot-plate testi

Çalışmamızda kullandığımız Hot-plate ağrı ölçüm testi, fare, rat, gibi kemirgenlerin ağrı eşiğinin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan metodlardan biridir. Hayvan 50-56 °C'ye ısıtılmış bir yüzey üzerine belli süre için konulur ve konulmasının ardından arka ayağını çekmesine ve/veya yalmasına kadar geçen süre ölçülür. Doku hasarına neden olabileceği için hayvan bu yüzeyde 60 saniyeden daha uzun süre tutulmaz. Bu yöntemin en önemli dezavantajı, reaksiyon süresinin bireysel farklılık göstermesidir (90).

## 2.6. Analjezik ve Anti-inflamatuvar İlaçlar

Ağrı ve inflamasyon tedavisinde kullanılan ilaçlar steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (SAİİ) ve steroid olmayan anti-inflamatuvar ilaçlar (Non-sterodial anti-inflamatuvar ilaçlar = NSAİİ) olarak iki genel gruba ayrılmaktadır. Ayrıca, bazı inflamatuvar hastalıklarda yukarıda belirttiğimiz anti-inflamatuvar ilaçlar dışında penisilamin, kolşisin, kinin türevleri, altın bileşikleri, anti-inflamatuvar etkileri kanıtlanmış bazı bitkiler ve saflaştırılmış bitkisel ürünler de kullanılmaktadır (91).

### 2.6.1. Steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (SAİİ)

Kortikosteroidler güçlü anti-inflamatuvar ve immunmodulator etki gösterirler. Akut ve kronik inflamasyon olaylarını hangi etkene bağlı olursa olsun inhibe ederler. Klinikte sıklıkla kullanılan SAİİ'ler hidrokortizon, prednizon, prednizolon, metilprednizolon ve deksametazondur. Kortikosteroidler, başlıca inflamatuvar hastalıklarda, ağrılı sendromlarda, alerjik reaksiyonlarda ve organ naklinde kullanılırlar (92).

Antiinflamatuvar özellikleri fosfolipaz A2 (FLA2) enzimini inhibe etmelerine bağlıdır. Kortikosteroidler, intakt hücrelerde lipokortin 1 adlı proteinin sentezini indüklerler, bu olay da FLA2'nin ekspresyonunun ve aktivitesinin azalmasına neden olur. Böylece, araşidonik asit üretimi ve bütün eikozanoidlerin oluşumu azalmış olur (13). Ayrıca, kortikosteroidlerin,

- Direkt olarak COX 2 enzimi inhibe ettikleri,
- İnflamatuvar hücrelerin sayısını ve aktivitelerini azalttıkları,

- İnflamasyonda önemli fonksiyona sahip, endotel hücreleri üzerine etki ederek, damar geçirgenliliğini azaltarak kapiller membran permeabilitesini düşürüp ödem oluşumunu engelledikleri,
- Trombosit aktive edici faktör (PAF)'ün sentezini, salıverilmesini ve etkisini inhibe ettikleri,
- Lizozomal membran stabilizasyonu yaptıkları da bilinmektedir.

### **2.6.2. Non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)**

Bu grup ilaçlar kısaca antiinflamatuvar analjezikler olarak da karşımıza çıkabilmektedir. Kimyasal yapıları değişiktir, ancak genelde aynı terapötik etki ve yan etkilere sahiplerdir. NSAİİ' lar genellikle analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı kullanılmaktadırlar. Bu grup ilaçların prototipi aspirindir. Etki mekanizmaları anti-inflamatuvar steroid yapılı glukokortikoidlerden ve opioid analjeziklerden farklı olduğundan, farmakolojik etki profillerini daha uygun ifade eden bir adla non-steroidal (steroid-olmayan) antiinflamatuvar ilaçlar veya antiinflamatuvar analjezikler de denilir. NSAİİ' ların antiinflamatuvar etkinlikleri glukokortikoidlere göre zayıftır. Ancak, ilaç bağımlılığı, uyuşukluk ve bilinç bulanıklığı oluşturmadıklarından ağrılı hastalarda tercihen kullanılırlar. Analjezik etkileri ise, güçlü analjezikler olan ancak antiinflamatuvar etkileri bulunmayan narkotik analjeziklere göre genellikle zayıftır. Özellikle artrit, osteoartrit ve benzeri romatizmal hastalıklar gibi genellikle inflamasyona bağlı ve uzun süre analjezik ilaç verilmesi gereken ağrılı hastalıklarda tercih edilirler. Bağımlılık yapmamaları, antiinflamatuvar etkilerinin bulunması ve etkilerine karşı tolerans oluşmaması bu gruptaki ilaçların terapötik değerini daha da artırmaktadır (92-94). Semptomatik iyileşme sağlayan bu ilaçlar halen dünyada en çok reçete edilen ilaçların başında gelmektedir ve toplumdaki kullanım prevalansları yaklaşık %5 olduğu düşünülmektedir (95).

Antiinflamatuvar analjezikler kimyasal yapılarına göre sekiz veya dokuz gruba ayrılırken yarılama ömürlerine göre ise kısa ve uzun etkili olmak üzere 2 gruba ayrılırlar (Tablo 1). Kısa etkili olanlar (aspirin, parasetamol, ibuprofen, v.b) analjezik etki gerektiren spora bağlı travma, yumuşak doku ağrısı, diş ağrısı, gut atağı gibi durumlarda kullanılırken, uzun etkili olanlar (naproksen, piroksikam, diflunisal v.b)

ise genellikle inflamasyona bağlı ve uzun süre analjezik ilaç kullanılması gereken ağrılı artrit, osteoartrit ve benzeri romatizmal hastalıklarda kullanılırlar (93, 96-98).

**Tablo 1.** NSAİİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırması.

No	Kimyasal grubun adı	Örnek ilaçlar
1	Salisilatlar	Aspirin, salisilik asit, sodyum salisilat, diflunisal
2	Paraaminofenol türevleri	Asetaminofen (parasetamol)
3	Pirazolon türevleri	Aminopirin, propifenazon, metamizol sodyum, fenilbutazon, oksifenbutazon
4	Fenilpropiyonik asit türevi	İbuprofen, naproksen, fenbufen, ketoprofen
5	Fenilasetik asit türevleri	Diklofenak sodyum, fenklofenak
6	İndolasetik asit türevleri	İndometazin, tolmetin, ketorolak, sulindak
7	Fenamik asit türevleri	Mefenemik asit, flufenamik asit
8	Oksikamlar	Piroksikam, tenoksikam, meloksikam
9	COX-2 İnhibitörleri	Nimesulid, meloksikam, etodolak

#### 2.6.2.1. Etki mekanizmaları

NSAİİ'lerin antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkilerinin COX enziminin inhibisyonuna bağımlı olarak prostanooidlerin sentezinin azalmasından kaynaklandığı kabul edilmektedir. COX enziminin 3 Őekli bulunmaktadır. Bunlar COX-1, COX-2 ve COX-3 olarak adlandırılmaktadır. COX-1 enzimi trombositler dahil olmak üzere vücuttaki birçok dokuda sentezlenmektedir. COX-2 enzimi doku hasarının olduğu bölgelerde aktive olmaları sonucu inflamasyon yapan hücreler (PMNL, monositler, makrofajlar, fibroblast gibi) tarafından üretilmektedir. COX-3 enzimi ise sadece SSS' inde bulunmaktadır (94, 97, 99, 100).

COX -1 enzimi aracılığıyla sentezlenen prostanooidler: Bu gruptan PGE2 ve PGI2, gastrik asid sekresyonunu azaltarak, bikarbonat-mukus sekresyonunu ve gastrik mukoza kan akımını artırarak gastrik mukozayı korur. TxA2 trombosit agregasyonu yaparken, PGE2 ve PGI2 ise böbreklerde vazodilatasyon ve renal kan akımı artışına, uterusun kasılmasına neden olurlar. COX-2 enzimi aracılığıyla üretilen prostanooidler ise, inflamasyon oluşumuna aracılık ederler, ağrı uyarılarına karşı reseptörlerin duyarlılığını artırırılar, vücut sıcaklığının artmasına yol açarlar ve böbrek fonksiyonunu düzenlerler (91, 101).

Klasik NSAİİ'lar her iki enzimi birden inhibe ederken, COX 2 inhibitörleri indüklenebilen COX-2'yi inhibe ederler. Bu ilaçların COX-1 ve COX-2 üzerinde inhibisyon oranları arasında farklılık vardır. COX-1 üzerinde daha selektif olanlar arasında indometazin, sulindak, aspirin, piroksikam ve mefenamik asit yer almaktadır. Diklofenak ve naproksen, COX-1 ve COX-2 üzerinde aynı ölçüde inhibisyon yapan NSAİİ' lardandır. Nimesulid, meloksikam ve etodolak ise selektif COX-2 inhibitörleri arasında yer alırlar (101-103).

Ayrıca, NSAİİ'ların farmakolojik etkilerinde nötrofil aktivasyonunun inhibe edilmesi, reaktif serbest oksijen radikallerin bağlanması veya oluşumun engellenmesi ve lizozomal membran stabilizasyonun da önemli rol oynadığı bildirilmektedir (97,98).

#### 2.6.2.2. Farmakokinetik özellikleri ve istenmeyen yan etkileri

Antiinflamatuvar analjeziklerin (NSAİİ) çoğu zayıf asidik yapıda olduklarından GİS mukozasından kolayca emilmektedirler. Bu tür ilaçlar plazma proteinlerine çok yüksek oranda bağlanırlar (tipik olara >95%). NSAİİ'lar genel olarak albümine bağlanırlar ve çoğu karaciğerde inaktif metabolitlerine metabolize olurlar (98, 104).

NSAİİ kullanan toplumların yaklaşık % 20 sinde toksik belirtiler görülmektedir. NSAİİ'ların istenmeyen yan etkileri ülserler, iç kanamalar, böbrek yetmezliği, kalp krizi ve inme riskinde artışları içerirler. En önemli yan etkileri GİS'e ait olanlardır ve COX-1 enziminin inhibisyonundan kaynaklandığı bildirilmektedir. Bu sebeple GİS hastalığı olanlarda bu ilaçlar mide kanamasına sebep olabileceği için dikkatli kullanılmaları gerekir (98, 105-107). Ayrıca, çok kullanılan ilaç grubu oldukları için yan etkileri daha düşük, analjezik ve antiinflamatuvar etkileri daha güçlü yeni ilaçlar bulmaya yönelik araştırmalar devam etmektedir.

## 2.7. Heparin

Heparin domuz ince barsak mukozası ve sığır akciğerinden elde edilir. Heparin, ekstraksiyon sırasında glikozaminoglikan zincirlerinin kırılmaları ile oluşan ortalama molekül ağırlığı 12.000 dalton olan fragmentlerinin heterojen bir karışımıdır. Heparin, molekül ağırlığı, antikoagulan aktivite ve farmakokinetik

özellikleri ile heterojen bir yapı gösterir. Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) standart heparindeki polisakkaridlerin depolimerizasyonu sonucunda oluşan kısa fragmentlerin bir karışımıdır. DMAH'lerin molekül ağırlıkları 4000-6500 dalton arasında değişmektedir. Düşük molekül ağırlığından dolayı plazma proteinlerine ve hücrelere daha az bağlanırlar. DMAH preparatları, standart heparin gibi faktör Xa'yı inaktive eder ve plazma proteinlerine daha az bağlandıkları için daha düşük dozlarda daha belirgin etki gösterirler. Standart heparin molekülü için anti-faktör Xa / anti-faktör IIa oranı 1:1 iken DMAH preparatları için bu oran molekül büyüklüğüne göre 2:1 ile 8:1 arasında değişmektedir. Yani DMAH'lerin antifaktör Xa etkinlikleri güçlü ve antifaktör IIa etkinlikleri daha düşüktür. Standart heparin ve DMAH preparatları derin ven trombozunun ve pulmoner embolinin önlenmesinde ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Heparin preparatlarının hepsi membranlardan geçemediği için parenteral (*iv*, *sc*) olarak uygulanmaktadır (17, 98, 108, 109).

Heparin molekülünün antikoagulan etkisi için bir plazma faktörü olan antitrombin (AT)'e gereksinim duyulur. Heparin, molekülündeki pentasakkarid zinciri (GlcNAc/NS(6S)-GlcA-GlcNS(3S,6S)-IdoA(2S)-GlcNS(6S)) aracılığı ile AT'e bağlanır; böylece hem standart heparin hem de DMAH preparatları antitrombin III ile etkileşerek prokoagulan serin proteazlarını inaktive eder ve protrombinin trombine dönüşümünü engellerler. Dolayısıyla fibrinojenden fibrin ve pıhtı oluşumunu azaltırlar. Heparin, yüksek konsantrasyonlarda ise hem faktör II'ye bağlanır, hem de trombosit fonksiyonlarını inhibe eder (18, 110, 111).

Standart heparin, DMAH'lere göre dolaşımdan daha hızlı temizlenir. Heparin AT aracılığı ile etki yaptığından bir indirekt trombin inhibitörü olarak kabul edilmektedir. Heparin-AT kompleksi trombin yanında, FXIa, FXa ve FIXa'yı da inhibe etmektedir. Antikoagülasyon tedavisinde heparinin etkisi APTT (aktive parsiyel tromboplastin zamanı) ile ölçülür ve yeterli antikoagülasyon için APTT normalin 1.5-3 katı arasında tutulur. DMAH etkinliği ise antifaktör Xa düzeyi ölçülerek hesaplanabilmektedir (98).

Heparinin potansiyel bir antiinflamatuvar etkisi olduğu bilinmektedir ve son yıllarda bu konu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (112, 113). Heparinin antiinflamatuvar aktivitesinin spazm ve ağrıyı gidermesi ile ilgili olduğu bildirilmekle birlikte, heparinin antiinflamatuvar etki mekanizması henüz bilinmemektedir. Ayrıca, heparinin antihiperlipidemik, tümör gelişimini engelleyici

ve anjiyogenezi düzenleyici, antibakteriyal ve antiviral etkiye sahip olduğunu da gösterilmiştir. Viral enfeksiyon vakalarında heparinin etkisinin antiinflamatuvar veya antihiyaluronidaz etkisi ile olabileceği vurgulanmıştır (109, 114).

Çalışmamızda, heparin sodyum, bemiparin sodyum ve enoksaparin sodyum tedavilerinin, diklofenak tedavisine göre, anti-nosiseptif etkinlik açısından ve karragenin ile oluşturulan pençe ödemi modelinde pençe hacmi ve histopatolojik değerlendirme sonucu farklılık oluşturup oluşturmadıklarının ortaya konması hedeflenmiştir. Ayrıca, akut inflamasyon çalışmasında etkili bulunan dozların koton-pellet yöntemi (pamuk bilye) ile oluşturulan kronik inflamasyon modelinde de anti-inflamatuvar etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda bemiparin sodyum (®Hibor-DEM İlaç), enoksaparin sodyum (®Clexane-Sanofi Aventis İlaçları Ltd. Şti.), heparin sodyum (Nevparin- Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş.), diklofenak sodyum (Diclomec amp- Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.), prednisolon (Actavis ilac), sodyum pentotal ve karragenin (Sigma) kullanıldı.

#### 3.2. Hayvanlar

Çalışmamızda kullanılan sıçanlar Bülent Ecevit Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Deney için ağırlıkları 200-250 gram arasında değişen toplam 132 adet albino Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık ortamda, normal oda sıcaklığında (22 C°) barındırılıp, standart yem ve su ile beslendi. Hayvanlar üzerinde yapılan uygulamalar ve protokoller için “Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu” ndan onay (2015-07-11/02) alınmıştır.

#### 3.3. Sıçanlarda Hot-Plate Ağrı Modeli

Sıçanlarda analjezik etki, hot-plate cihazı ile değerlendirildi. Cihazın sıcaklığı  $52.5 \pm 0.1$  C°'ye ayarlandıktan sonra, bu sıcak zemine konulan sıçanların arka pençelerinden birini hızlı bir şekilde geri çekmeleri veya yalamaları veya sıçramalarına kadar geçen süre (latent süresi) saniye cinsinden ölçüldü. Bu sürenin 45 saniye üzerine çıkması durumunda yukarıdaki davranışlardan biri gözlenmese dahi doku hasarı oluşmasını önlemek için test sonlandırılmıştır (90).

**Heparin sodyum çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra,

1. Gruba (n=6) distile su (10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) heparin sodyum (100 Ü /kg).
3. Gruba (n=6) heparin sodyum (500 Ü /kg),
4. Gruba (n=6) heparin sodyum (1000 Ü /kg),

5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulandı. İlaç uygulamalarından sonraki 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda hot-plate testi ile latent süreleri ölçüldü.

**Enoksaparin sodyum çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra,

1. Gruba (n=6) distile su ( 10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum ( 100 Ü /kg),
3. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum (200 Ü /kg),
4. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum (400 Ü /kg),
5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulandı. İlaç uygulamalarından sonraki 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda hot-plate testi ile latent süreleri ölçüldü.

**Bemiparin sodyum çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra,

1. Gruba (n=6) distile su (10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (125 Ü/kg),
3. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (250 Ü/kg),
4. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (500 Ü/kg),
5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulandı. İlaç uygulamalarından sonraki 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda hot-plate testi ile latent süreleri ölçüldü.

### **3.4. Sıçanlarda Karragenin ile Oluşturan Akut İnflamasyon Modeli (115)**

**Heparin sodyum çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra, normal sağ arka ayak hacimleri hidro-pletismometre ile ölçülerek kaydedilmiştir. Daha sonra,

1. Gruba (n=6) distile su ( 10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) heparin sodyum ( 100 Ü /kg),
3. Gruba (n=6) heparin sodyum (500 Ü /kg),
4. Gruba (n=6) heparin sodyum (1000 Ü /kg),
5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulanmıştır.



**Enoksaparin sodyum çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra, normal sağ arka ayak hacimleri hidro-pletismometre ile ölçülerek kaydedilmiştir. Daha sonra,

1. Gruba (n=6) distile su ( 10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum ( 100 Ü /kg),
3. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum (200 Ü /kg),
4. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum (400 Ü /kg),
5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulanmıştır.

**Bemiparin çalışması için;** Sıçanlar 5 gruba ayrıldıktan sonra, normal sağ arka ayak hacimleri hidro-pletismometre ile ölçülerek kaydedilmiştir. Daha sonra,

1. Gruba (n=6) distile su ( 10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (125 U/kg),
3. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (250 U/kg),
4. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (500 U/kg),
5. Gruba (n=6) diklofenak sodyum (25 mg /kg) intraperitoneal yolla uygulanmıştır.

İlaç uygulamalarından 30 dakika sonra bütün gruptaki sıçanların sağ arka pençelerine %1' lik karragenin solüsyonundan 0,1 ml enjekte edilmiş ve bunu takiben aynı pençelerin hacmi 5 kez daha ölçülmüştür. Çalışmamız esnasında sıçanların pençelerinde oluşan inflamasyon miktarları her denek için aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (116);

$$\text{Yüzde inflamasyon oranı (\%)} = (V_t - V_0) / V_0 \times 100$$

$V_0$ : Normal pençe hacmi(ml)

$V_t$ : Karragenin enjeksiyonundan t saat sonraki pençe hacmi (ml)

İlaçların AİE oranları, gruptaki sıçanların normal pençe hacimlerine oranla % artışlarının ortalaması alınıp, aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır;

$$\text{AİE (\%)} = (1 - D/C) \times 100$$

D: ilaç grubundaki sıçan pençe hacmindeki ortalama % artış oranı

C: kontrol grubundaki sıçanların pençe hacmindeki ortalama % artış oranı

Ayrıca; son ayak ölçümlerinden hemen sonra, hayvanlar tiopental sodyum (50 mg/kg) ile öldürülüp, hayvanların sağ ve sol arka ayakları dirsek hizasından kesilerek her iki ayak ağırlıkları hassas terazi ile tartılıp, iki ayak arasındaki ağırlık farkı % fark olarak ölçülmüştür. Daha sonra, sağ arka ayak pençeleri histopatolojik incelemeler için % 10'luk formalin solüsyonuna konulmuştur.

### 3.4.1. Histopatolojik incelemeler

Çalışmada dekapitasyon işlemi uygulanan sıçanların pençeleri eksize edilerek % 10' luk tamponlu nötral formalin solüsyonu ile fikse edildi. Pençelerin fleksöz yüzlerindeki deri ve yumuşak dokular total olarak diseke edilerek rutin doku takibi işlemine alındı ve parafin bloklara gömme işlemi yapıldı. Parafin bloklardan mikrotom bıçağı ile 4µ kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen ve eozin boyası ile boyanan preparatlar aynı patolog tarafından, akut inflamatuvar yanıt açısından, ışık mikroskobu altında farklı büyütme alanlarında (x50, x100, x200, x400 ve x1000) incelendi. Patolojik incelemede akut inflamatuvar yanıtın derecesini belirlemek amacıyla her bir denekten alınan doku örnekleri ardışık iki kesitte PMNL yoğunluğu açısından değerlendirildi. PMNL sayısı, inflamasyonun en yoğun olduğu alanlar seçilerek, 10 farklı x400 büyütme alanında sayıldı ve ortalaması alındı (116).

### 3.5. Koton Pellet Granüloma Testi

Deneyin bu aşamasında, heparin türevlerinin akut inflamasyon modelinde etkili bulduğumuz dozlarının kronik inflamasyona etkileri, koton pellet modeli (pamuk bilye) ile araştırıldı (82). Buna göre, hayvanlar;

1. Gruba (n=6) distile su (10 ml/kg),
2. Gruba (n=6) heparin sodyum (1000 Ü/kg),
3. Gruba (n=6) enoksaparin sodyum (400 Ü/kg),
4. Gruba (n=6) bemiparin sodyum (125 Ü/kg),
5. Gruba (n=8) diklofenak sodyum (10 mg/kg),
6. Gruba (n=6) prednisolon (10 mg/kg) grubu olmak üzere 6 gruba ayrılıp, bu ilaçlar intraperitoneal yolla hayvanlara uygulandıktan 30 dakika sonra, bütün gruplar tiopental sodyum (25 mg/kg) ile anestezi edildi. Steril şartlarda hazırlanan  $10 \pm 1$  mg ağırlığındaki pamuk bilyeler, anestezi altındaki hayvanların interskapüler bölgesindeki cilt altına yerleştirildi ve bu işlemi takiben bir hafta boyunca deneklere ilaçları günde tek doz olarak intraperitoneal yolla uygulandı. Sekizinci günde sıçanlar yüksek doz anestezi ile öldürüldü, pamuk bilyeler çıkartılıp, nemli ve kuru olarak tartıldı. Heparin türevlerinin antiproliferatif etkileri diklofenak sodyum, prednisolon ve kontrol gruplarından elde edilen veriler ile karşılaştırıldı.

### 3.6. Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme, SPSS 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler, aritmetik ortalama±standart hata olarak ifade edildi. Gruplar arası sayısal ölçümlerde farklılık olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak değerlendirildikten sonra, ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U Testi ile yapıldı ve  $p<0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Heparin Türevlerinin Karragenin İnflamasyonu Modeli Üzerine Etkileri

#### 4.1.1. Heparinin etkileri

##### 4.1.1.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri

Çalışmamızda pençelerde karragenin ile pençe ödemi oluşturulmuştur. Kontrol grubundaki sıçanların pençe hacmi artışları (inflamasyon oranı) 2.saatte (% 50.58±3.47) ve 3. saatte (% 55.42±5.17) maksimum düzeylerde ölçülmüştür. Heparin ve diklofenak gruplarının değerleri kontrol grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında (Tablo 2 ve Şekil 12);

- 100 Ü/kg heparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 36.80 (p=0.004) ve 3. saatte 32.89' luk (p=0.025) antiinflamatuvar etki (AİE) gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır.

- 500 Ü/kg heparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 25.92 ve 3. saatte 27.16' lik AİE gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

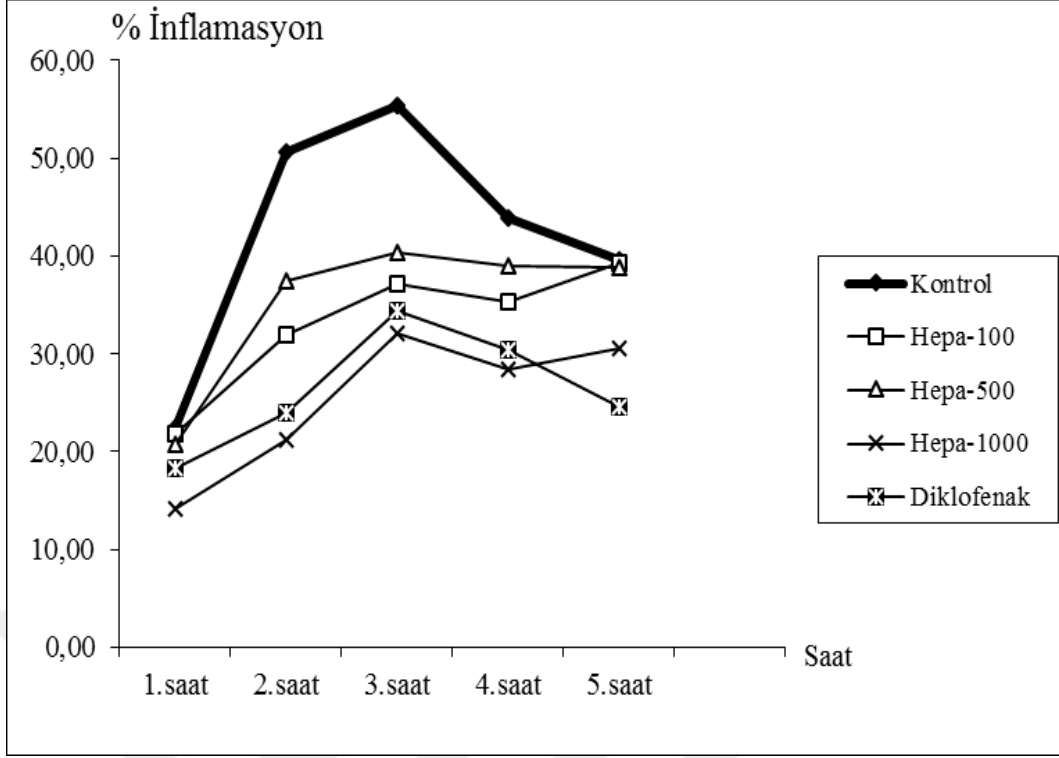
- 1000 Ü/kg heparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 58.14 (p=0.004) ve 3. saatte 41.98' lik (p=0.016) AİE gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır.

- 25 mg/kg diklofenak uyguladığımız grupta 2. saatte % 52.60 (p=0.004) ve 3. saatte 38.07'lik (p=0.025) AİE gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

**Tablo 2.** Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.

Grup adı	Saat 1	Saat 2	Saat 3	Saat 4	Saat 5
<b>Kontrol</b>	22.44±3.47	50.58±3.87	55.42±5.17	43.91±5.47	39.63±1.84
<b>Hepa-100</b>	21.83±2.78	31.97±1.65*	37.19±3.95*	35.27±3.39	39.26±2.72
<b>Hepa-500</b>	20.72±4.90	37.47±5.97	40.37±8.48	38.99±8.00	38.86±7.46
<b>Hepa-1000</b>	14.12±4.47	21.17±2.83*	32.15±4.42*	28.37±4.96	30.57±3.72
<b>Diklofenak</b>	18.26±3.61	23.98±5.25*	34.32±5.83*	30.37±6.04	24.51±5.29*

\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 12.** Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemeine etkileri.

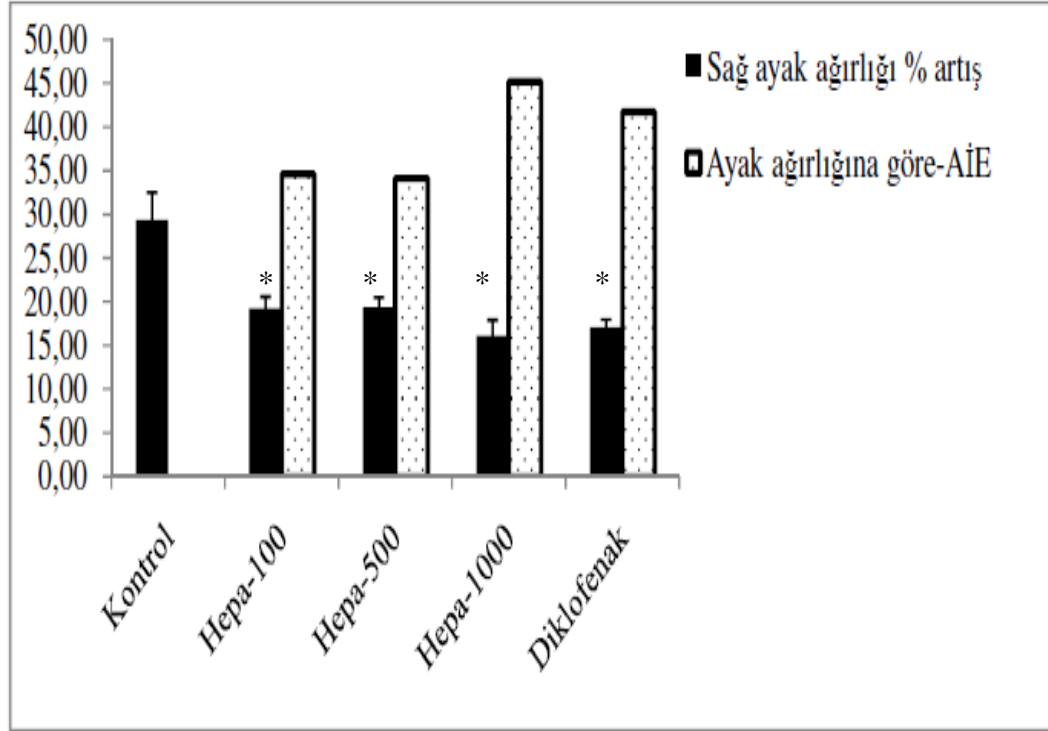
#### 4.1.1.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri

Çalışmamızın sonunda, hayvanların sağ ve sol arka ayakları kesilerek her iki ayak ağırlıkları hassas terazi ile ölçülmüştür. Her iki ayak arasındaki ağırlık farkı % fark olarak değerlendirilmiş ve bu farklara göre; kontrol (sadece karragenin) grubundaki hayvanların iki ayak arasındaki ağırlık farkı %  $29.38 \pm 3.10$  olarak ölçülmüştür. İki ayak arasındaki ağırlık farklarına göre, heparin 100, 500, 1000 ü/kg ve diklofenak uyguladığımız gruplara ait AİE'ler, sırasıyla % 34.65, % 34.14, % 45.23 ve % 41.76' dir. Heparin ve diklofenak'ın iki ayak arasındaki ağırlık farklarında yapmış olduğu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 3 ve Şekil 13) ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 3.** Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.

Grup adı	İki ayak arasındaki ağırlık farkları (%)	AİE (%)
<b>Kontrol</b>	29.38±3.10	-
<b>Hepa-100</b>	19.20±1.39*	34.65
<b>Hepa-500</b>	19.35±1.17*	34.14
<b>Hepa-1000</b>	16.10±1.82*	45.23
<b>Diklofenak</b>	17.11±0.87*	41.76

\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

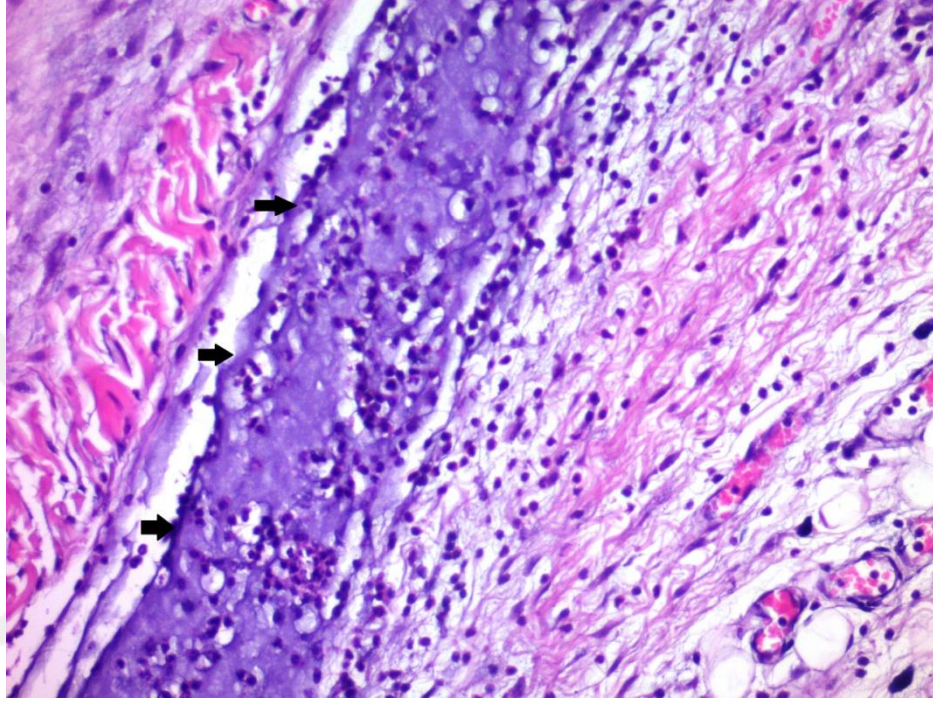


**Şekil 13.** Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri (\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

#### 4.1.1.3. Histopatolojik etkileri

Kontrol grubunun pençelerinde, karragenin ile oluşturulan inflamatuvar yanıtın derin subkutan dokuda daha yoğun olmak üzere, giderek azalan şiddette yüzeysel dermise doğru yayıldığı gözlemlendi. Fasya üzerinde yoğun PMNL ve hücre

yıkım ürünleri içeren abse formasyonu izledi. Dermiste PMNL'lerin baskın olarak perivasküler alanlarda yoğunlaştığı ve kollajen lifleri arasında intersitisyel infiltrasyon gösterdiği belirlendi. Kontrol grubunda ortalama PMNL sayısı  $46.33 \pm 7.10$  tespit edildi ve bu grupta (diğer gruplara göre) en ağır akut inflamatuvar yanıt izlendi (Şekil 14).



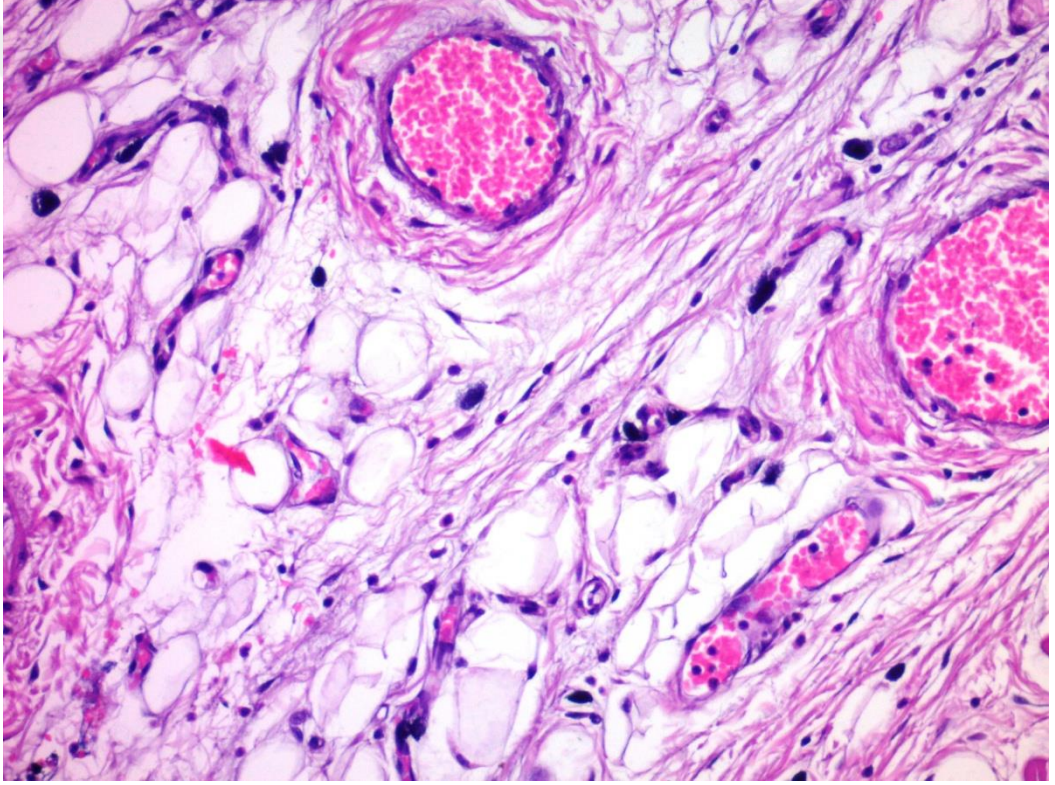
Şekil 14. Kontrol grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.

Heparin grubunda doz artımı ile ortalama PMNL sayısı arasında negatif bir korelasyon gözlemlendi. Heparin 1000 grubunda subkutan dokuda abse formasyonu saptanmadı, dermal dokuda intersitisyel dağılım gösteren az sayıda, topluluk oluşturmayan PMNL varlığı belirlendi. Heparin 100 ve heparin 500 gruplarında akut inflamatuvar yanıt şiddeti kontrol grubuna göre daha düşük olmakla birlikte ortalama PMNL sayısı açısından heparin 100 ve heparin 500 gruplarının birbirlerine benzer olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunun ortalamaları ile tüm heparin dozlarının ve diklofenak grubunun ortalamaları karşılaştırıldığında nötrofil sayılarındaki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4, Şekil 15).

**Tablo 4.** Heparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri.

Grup adı	Nötrofil Sayısı
Kontrol	46.33±7.10
Hepa-100	33.17±2.18*
Hepa-500	33.33±2.28*
Hepa-1000	30.17±3.84*
Diklofenak	30.00±0.58*

\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 15.** Heparin 1000 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.



## 4.1.2. Enoksaparinin etkileri

### 4.1.2.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri

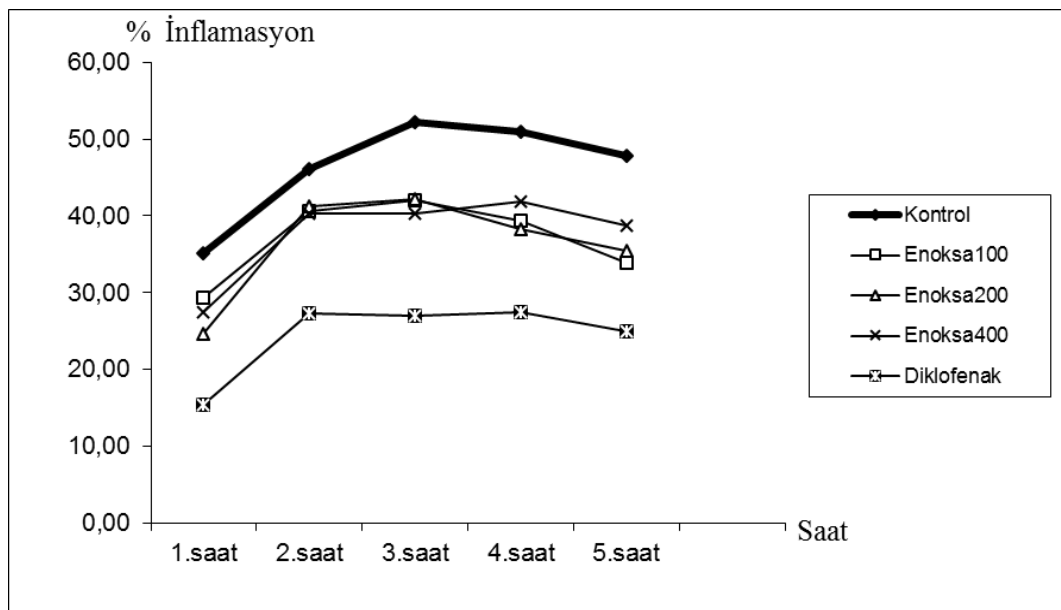
Kontrol grubundaki sıçanların pençe hacmi artışları (inflamasyon oranı) 2. saatte (% 46.12±5.35), 3. saatte (%52.29±6.11) ve 4. saatte (%50.91±7.30) maksimum düzeylerde ölçülmüştür. Bu ölçümler diklofenak ve enoksaparin gruplarının değerleri ile karşılaştırıldığında;

- Diklofenak ölçüm yapılan tüm saatlerde belirgin AİE göstermiştir ( $p < 0.05$ ).
- Enoksaparin uyguladığımız grupların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı AİE'ler tespit edilememiştir (Tablo 5, Şekil 16).

**Tablo 5.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.

Grup adı	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat
<b>Kontrol</b>	35.16±6.72	46.12±5.35	52.29±6.11	50.91±7.30	47.81±5.98
<b>Enoksa-100</b>	29.28±3.52	40.63±6.68	42.02±6.31	39.39±6.02	33.84±4.04
<b>Enoksa-200</b>	24.69±1.43	41.20±2.00	42.15±2.86	38.23±1.57	35.45±2.13
<b>Enoksa-400</b>	27.44±2.15	40.23±3.63	40.32±3.99	41.85±5.37	38.73±7.24
<b>Diklofenak</b>	15.40±2.25*	27.38±1.55*	27.06±2.97*	27.53±3.91*	24.88±2.21*

\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 16.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde etkileri.

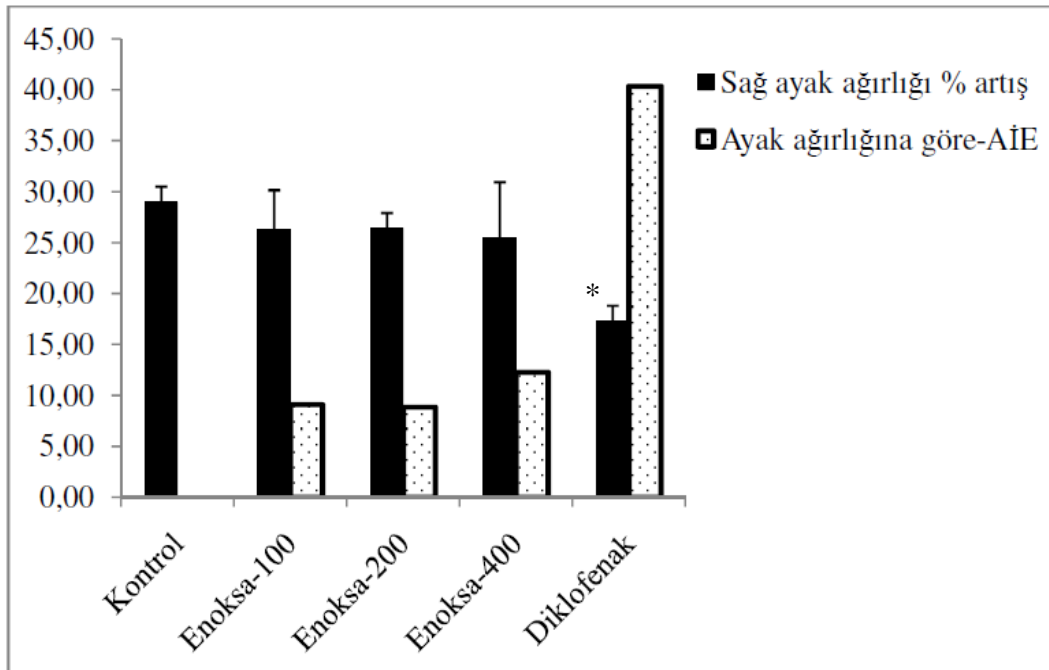
#### 4.1.2.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri

Çalışmamızın sonunda, hayvanların sağ ve sol arka ayakları arasındaki ağırlık farkı kontrol grubunda % 28.95±1.56 olarak ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre, diklofenak'ın yapmış olduğu azalma (AİE= % 40.38) anlamlı (p= 0.004) iken, enoksaparin gruplarında görülen azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 6, Şekil 17).

**Tablo 6.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.

Grup adı	İki ayak arasındaki ağırlık farkları (%)	AİE (%)
<b>Kontrol</b>	28.95±1.56	-
<b>Enoksa-100</b>	26.31±3.83	9.11
<b>Enoksa-200</b>	26.39±1.52	8.86
<b>Enoksa-400</b>	25.40±5.54	12.28
<b>Diklofenak</b>	17.26±1.54*	40.38

\*p< 0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 17.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri (\*p< 0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

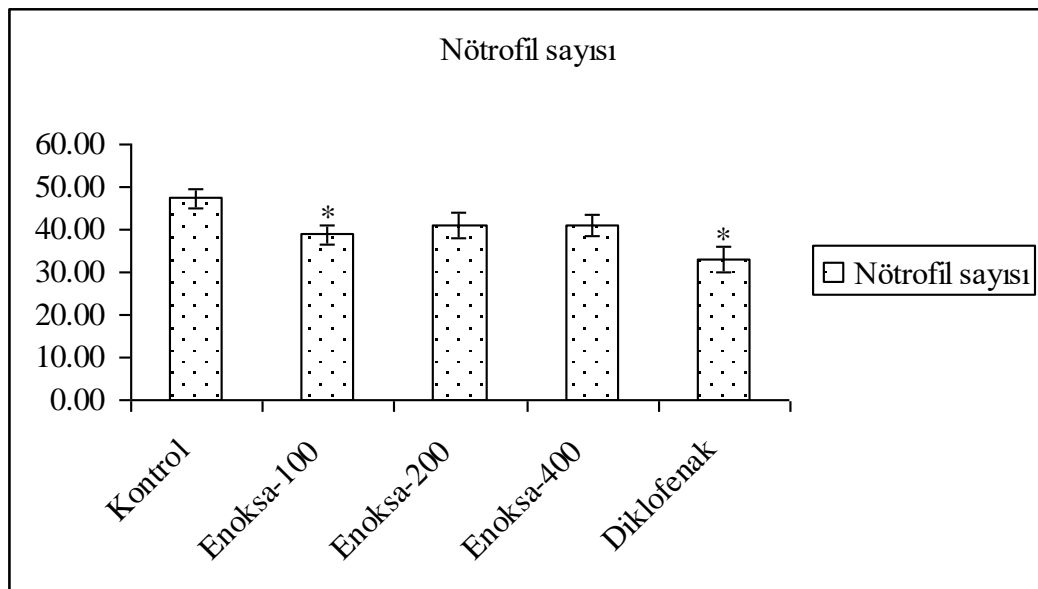
#### 4.1.2.3. Histopatolojik etkileri

Kontrol grubuna göre, enoksaparin gruplarında PMNL infiltrasyonu daha az yoğunlukta gözlenmiştir, doza bağımlı ortalama PMNL sayısında herhangi bir azalma tespit edilememiştir. Enoksaparinin 200 ve 400 Ü/kg uygulanan grupların derin subkutan dokularında abse odağı oluşturan PMNL grupları ve intersitisyel alanda orta derecede PMNL infiltrasyonu gözlenmiştir. Diklofenak uygulanan grubun nötrofil sayısındaki azalma anlamlı bulunmuştur. Enoksaparin 100 Ü/kg uygulanan grubunun nötrofil sayısındaki azalma da anlamlıdır ( Tablo 7, Şekil 18 ve 19).

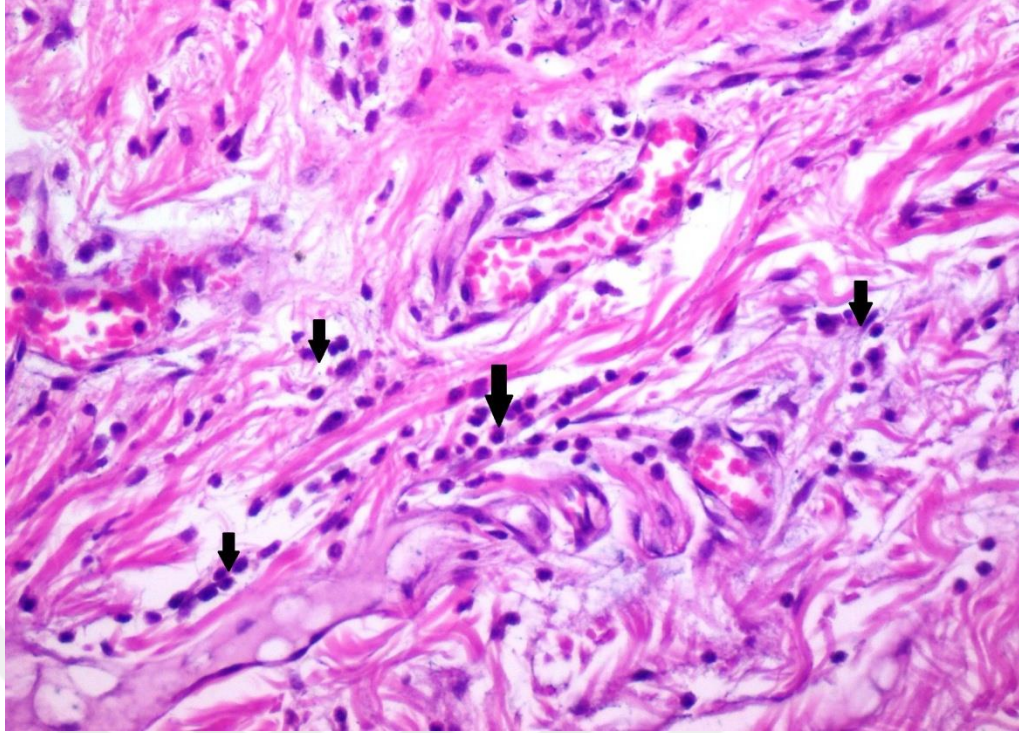
**Tablo 7.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri.

Grup adı	Nötrofil Sayısı
<b>Kontrol</b>	47.33±2.36
<b>Enoksa-100</b>	38.83±2.18*
<b>Enoksa-200</b>	41.00±2.88
<b>Enoksa-400</b>	40.83±2.52
<b>Diklofenak</b>	33.00±3.18*

\*  $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 18.** Enoksaparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde nötrofil sayısı üzerine etkileri (\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).



**Şekil 19.** Enoksaparin 100 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.

### **4.1.3. Bemiparinin etkileri**

#### **4.1.3.1. Pençe hacim artışları üzerine etkileri**

Kontrol grubundaki sıçanların pençe hacmi artışları (inflamasyon oranı) 2. saatte (% 37.59±3.16), 3. saatte (% 37.77±4.02) ve 4. saatte (% 35.08±3.11) maksimum düzeylerde ölçülmüştür. Bu ölçümler diklofenak ve bemiparin gruplarının değerleri ile karşılaştırıldığında (Tablo 8, Şekil 20);

- 125 Ü/kg bemiparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 29.81 (p=0.010), 3. saatte 26.88' lik (p=0.055) ve 3. saatte 30.91' lik (p=0.016) belirgin AİE gözlenmiştir.

- 250 Ü/kg bemiparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 27.19, 3. saatte 16.78 ve 4. saatte % 14.82' lik AİE gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

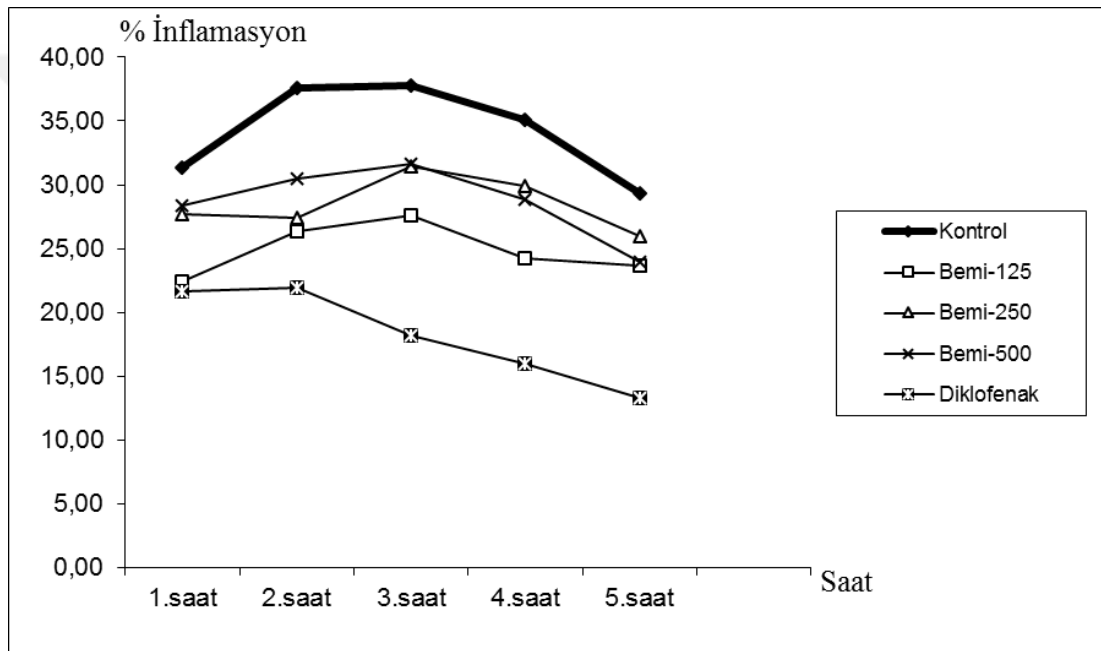
- 500 Ü/kg bemiparin uyguladığımız grupta 2. saatte % 18.89, 3. saatte 16.28 ve 4. saatte % 17.68' lik AİE gözlenmiştir. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

- 25 mg/kg diklofenak uyguladığımız grupta 2. saatte % 41.61 (p=0.004), 3. saatte 51.97 (p=0.006) ve 4. saatte % 54.47' lik (p=0.004) AİE gözlenmiştir.

**Tablo 8.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.

Grup adı	Saat 1	Saat 2	Saat 3	Saat 4	Saat 5
<b>Kontrol</b>	31.32±2.31	37.59±3.16	37.77±4.02	35.08±3.11	29.31±2.44
<b>Bemi-125</b>	22.39±2.13*	26.38±1.52*	24.24±2.51*	27.62±2.19	23.65±2.84
<b>Bemi-250</b>	27.65±4.25	27.37±3.16	31.43±2.30	29.88±2.88	26.01±3.92
<b>Bemi-500</b>	28.36±7.15	30.49±7.66	31.62±7.10	28.88±6.22	23.98±5.18
<b>Diklofenak</b>	21.67±1.51*	21.95±1.79*	18.14±1.35*	15.97±1.83*	13.26±1.23*

\* p < 0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 20.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödemi üzerine etkileri.

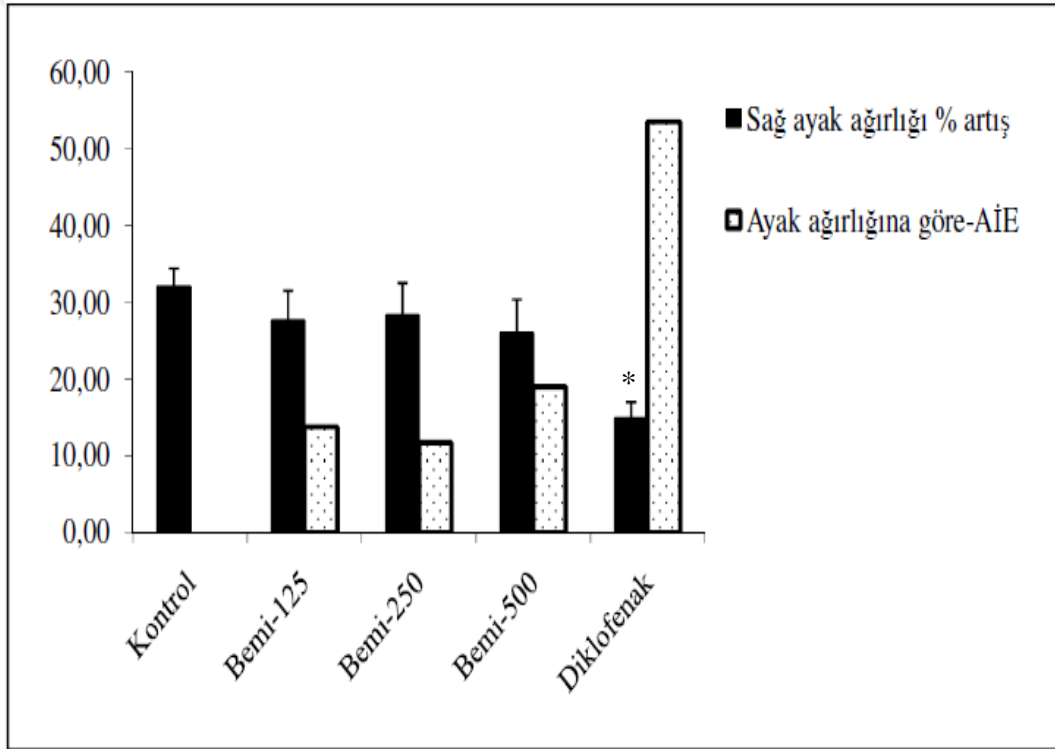
#### 4.1.3.2. Pençe ağırlıkları üzerine etkileri

Çalışmamızın sonunda, hayvanların sağ ve sol arka ayakları arasındaki ağırlık farkı kontrol grubunda % 32.06±2.39 olarak ölçülmüştür. İki ayak arasındaki ağırlık farklarına göre, bemiparin 125, 250, 500 ü/kg ve diklofenak uyguladığımız gruplara ait AİE'ler sırası ile % 13.82, 11.76, 19.06 ve 53.56'dır. Bu değerlere göre gruplardan sadece diklofenak grubundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p= 0.002) (Tablo 9, Şekil 21).

**Tablo 9.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıkları üzerine etkileri.

Grup adı	İki ayak arasındaki ağırlık farkları (%)	AİE (%)
<b>Kontrol</b>	32.06±2.39	-
<b>Bemi-125</b>	27.63±3.93	13.82
<b>Bemi-250</b>	28.29±4.25	11.76
<b>Bemi-500</b>	25.95±4.47	19.06
<b>Diklofenak</b>	14.89±2.14*	53.56

\* p = 0.002, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

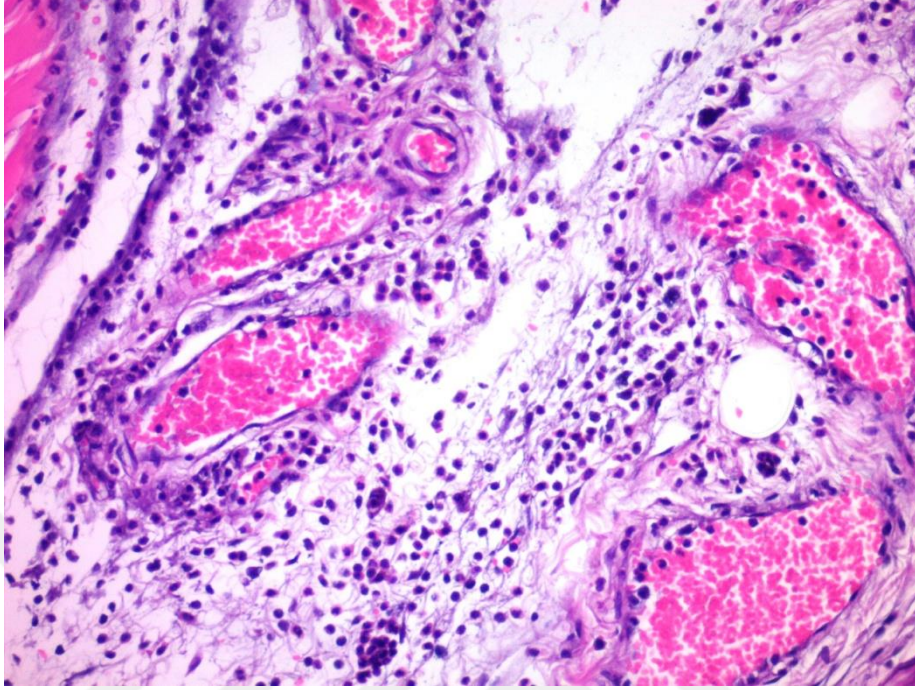


**Şekil 21.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde pençe ağırlıklarına etkileri (\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

#### 4.1.3.3. Histopatolojik etkileri

Tüm bemiparinin gruplarında, kontrol grubuna göre akut inflamatuvar yanıtta azalmayı yansıtan daha düşük ortalama PMNL sayısı gözlemlendi. Diklofenak grubunda abse formasyonu ve belirgin hücre yıkımına neden olan akut inflamatuvar yanıt

saptanmadı. Bemiparinin 125, 250 ve 500 doz gruplarında fokal mikroabseler, süpürasyon ve orta-yoğun intersitisyel PMNL infiltrasyonu mevcuttu (Şekil 22).



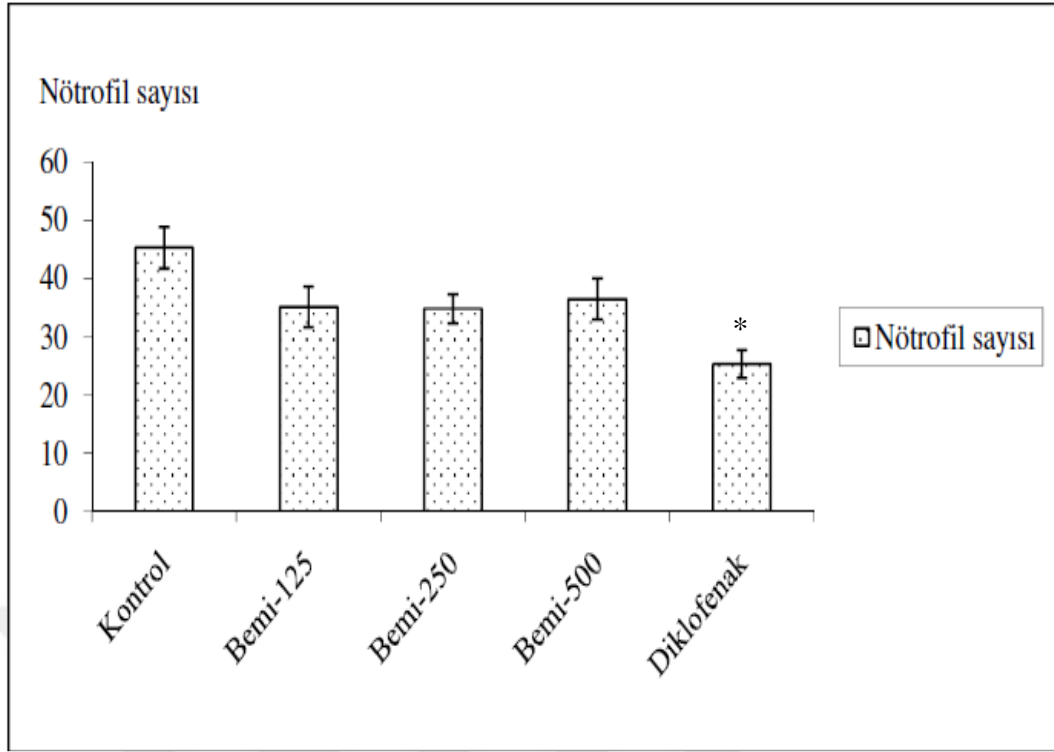
**Şekil 22.** Bemiparin 500 grubuna ait örneklerde PMNL dağılımı ve inflamatuvar yanıtı.

Diklofenak grubundaki nötrofil sayısı ortalamasında görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı ( $p= 0.004$ ) iken, bemiparin gruplarında gözlenen azalmalar anlamlı bulunamamıştır (Tablo 10, Şekil 23).

**Tablo 10.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde histopatolojik etkileri.

Grup adı	Nötrofil Sayısı
Kontrol	45.33±3.55
Bemi-125	35.17±3.48
Bemi-250	34.83±2.47
Bemi-500	36.50±3.53
Diklofenak	25.33±2.43*

\* $p<0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 23.** Bemiparinin karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde nötrofil sayısı üzerine etkileri (\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

#### **4.2. Heparin Türevleri, Diklofenak ve Prednizolonun Koton-Pellet Metodu İle Oluşturulan Kronik İnflamasyon Modeli Üzerine Etkileri**

Kontrol grubundaki sıçanların cilt altına yerleştirilen pamuk bilyelerin nemli ağırlıklarının ortalaması  $174.28 \pm 8.77$  mg iken, diklofenak verilen sıçanlarda  $134.46 \pm 10.75$  mg, prednisolon verilen sıçanlarda ise  $135.37 \pm 7.67$  mg olarak ölçülmüştür. Diklofenak ve prednizolonun pamuk bilyelerin ağırlıklarında yapmış olduğu azalmalar (antiproliferatif etki- APE) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 11).

Pamuk bilyelerin kurutulduktan sonraki ağırlıklarının ortalaması kontrol grubunda  $45.18 \pm 2.01$  mg iken, diklofenak grubunda  $31.66 \pm 2.39$  mg, prednisolon grubunda  $31.88 \pm 1.63$  mg ölçülmüştür. Diklofenak ve prednizolonun yapmış olduğu APE'ler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 11).

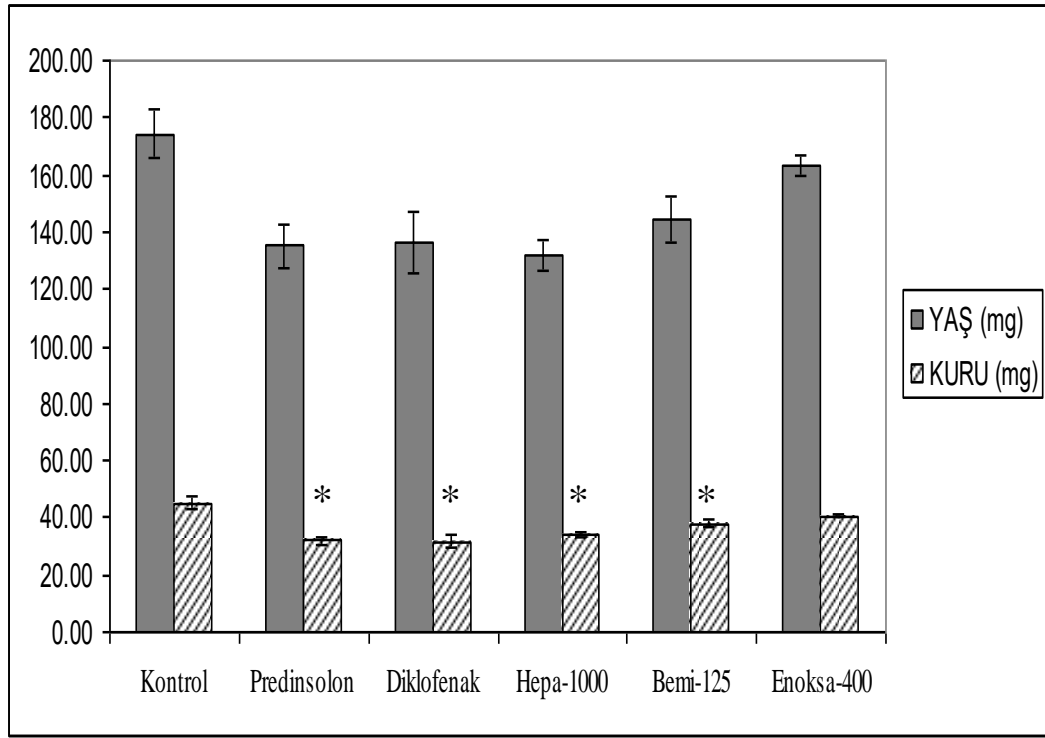
Çalışmamızda kullandığımız heparin türevleri pamuk bilyelerin hem yaş hem de kuru ağırlıklarını azaltmıştır ancak sadece heparin ve bemiparinin neden olduğu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 11, Şekil 24).



**Tablo 11.** Heparin türevleri, diklofenak ve prednisolonun koton-pellet metodu ile oluşturulan kronik inflamasyon modeli üzerine etkileri.

Grup adı	Pamuk ağırlığı	Yaş Ağırlık (mg)	APE % (Yaş)	Kuru ağırlık (mg)	APE % (Kuru)
<b>Kontrol</b>	10 ± 1	174.28 ± 8.77	-	45.18 ± 2.01	-
<b>Diklofenak-10</b>	10 ± 1	136.46 ± 0.75*	22.33	31.66 ± 2.39*	29.44
<b>Prednizolon-10</b>	10 ± 1	135.37 ± 7.67*	21.70	31.88 ± 1.63*	29.92
<b>Hepa-1000</b>	10 ± 1	132.08 ± 5.53*	24.21	34.30 ± 0.97*	24.68
<b>Bemi-125</b>	10 ± 1	144.55 ± 7.99*	17.06	38.00 ± 1.48*	15.89
<b>Enoksa-400</b>	10 ± 1	163.65 ± 3.59	6.10	40.70 ± 0.74	9.92

\* p< 0. 05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 24.** Heparin türevleri, diklofenak ve prednisolonun koton-pellet metodu ile oluşturulan kronik inflamasyon modeli üzerine etkileri (\*p<0.05, gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

### 4.3. Heparin Türevlerinin Hot-Plate Metodu İle Oluşturulan Ağrı Üzerine Etkileri

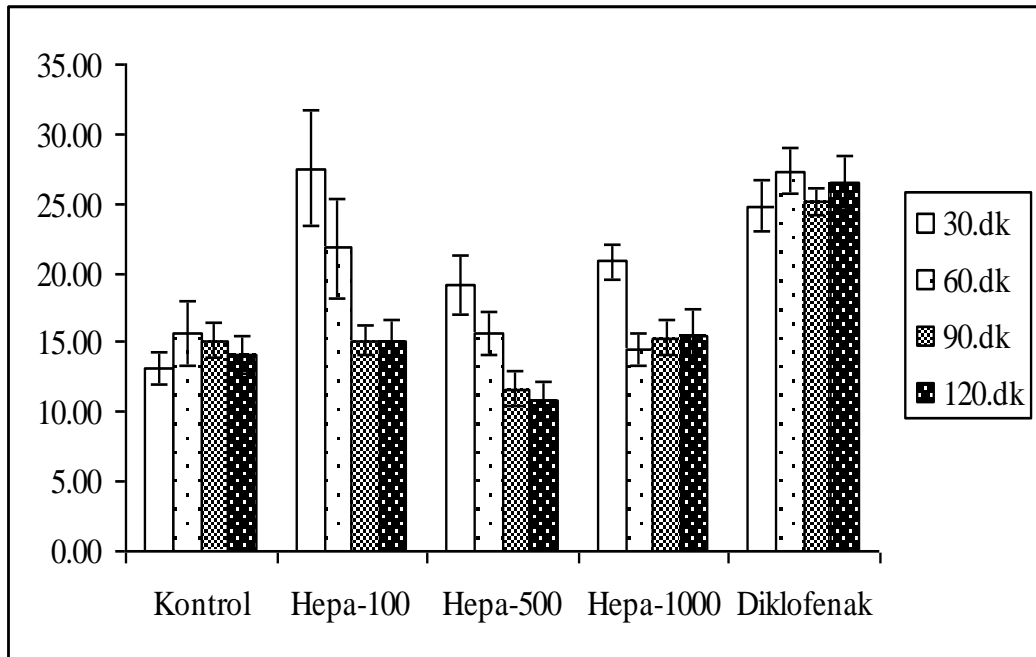
#### 4.3.1. Heparinin etkileri

Kontrol grubundaki sıçanlar, hot-plate alanında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda sırasıyla  $13.17 \pm 1.138$ ,  $15.67 \pm 2.231$ ,  $15.17 \pm 1.302$  ve  $14.17 \pm 1.376$  saniye sonra pençelerini yalamışlardır. Diklofenak tüm ölçümlerde, pençe yalama davranışı için geçen sürelerin hepsini, heparin ise tüm dozlarda sadece 30. dakikalardaki süreleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde uzatmıştır (Tablo 12, Şekil 25).

**Tablo 12.** Heparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri.

Grup adı	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk
<b>Kontrol</b>	$13.17 \pm 1.14$	$15.67 \pm 2.23$	$15.17 \pm 1.30$	$14.17 \pm 1.38$
<b>Hepa-100</b>	$27.50 \pm 4.17^*$	$21.83 \pm 3.56$	$15.17 \pm 1.14$	$15.00 \pm 1.55$
<b>Hepa-500</b>	$19.17 \pm 2.07^*$	$15.67 \pm 1.61$	$11.67 \pm 1.31$	$10.83 \pm 1.30$
<b>Hepa-1000</b>	$20.83 \pm 1.25^*$	$14.50 \pm 1.20$	$15.33 \pm 1.20$	$15.50 \pm 1.96$
<b>Diklofenak</b>	$24.83 \pm 1.89^*$	$27.33 \pm 1.71^*$	$25.17 \pm 1.01^*$	$26.50 \pm 2.01^*$

\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 25.** Heparine ait Hot plate testi sonuçları.

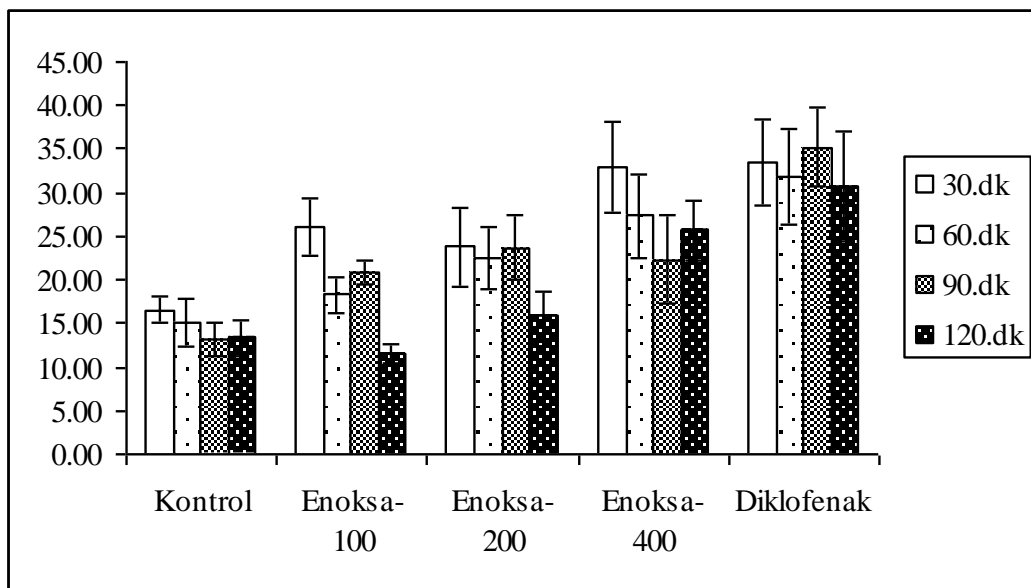
### 4.3.2. Enoksaparinin etkileri

Enoksaparin uyguladığımız grupları karşılaştırdığımız kontrol grubundaki sıçanlar, hot-plate alanına bırakıldıklarında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda sırasıyla  $16.50 \pm 1.48$ ,  $15.17 \pm 2.73$ ,  $13.17 \pm 2.02$  ve  $13.33 \pm 2.03$  saniye sonra pençe yalama davranışı sergilemişlerdir. Diklofenak, tüm ölçümlerde, pençe yalama davranışı için geçen sürelerin hepsini, istatistiksel olarak anlamlı şekilde uzatmıştır. Enoksaparin ise genel olarak analjezik etki göstermiştir, bunlardan bazıları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo13, Şekil 26).

**Tablo 13.** Enoksaparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri.

Grup adı	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk
<b>Kontrol</b>	$16.50 \pm 1.48$	$15.17 \pm 2.73$	$13.17 \pm 2.02$	$13.33 \pm 2.03$
<b>Enoksa-100</b>	$26.17 \pm 3.28^*$	$18.33 \pm 2.04$	$20.83 \pm 1.40^*$	$11.50 \pm 1.12$
<b>Enoksa-200</b>	$23.83 \pm 4.50$	$22.50 \pm 3.67$	$23.67 \pm 3.73^*$	$15.83 \pm 2.87$
<b>Enoksa-400</b>	$33.00 \pm 5.17^*$	$27.33 \pm 4.86^*$	$22.33 \pm 5.00$	$25.67 \pm 3.34^*$
<b>Diklofenak</b>	$33.50 \pm 5.02^*$	$31.83 \pm 5.46^*$	$35.17 \pm 4.56^*$	$30.67 \pm 6.25^*$

\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 26.** Enoksaparinine ait Hot plate testi sonuçları.

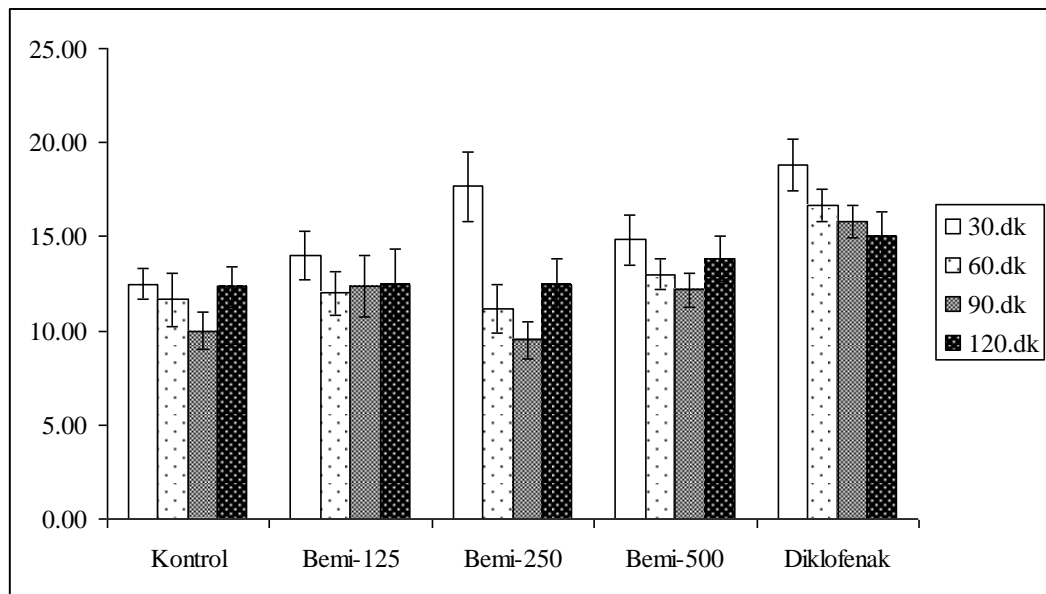
### 4.3.3. Bemiparinin etkileri

Bemiparin uyguladığımız grupları karşılaştırdığımız kontrol grubundaki sıçanlar hot-plate alanında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda sırasıyla  $12.50 \pm 0.85$ ,  $11.67 \pm 1.43$ ,  $10.00 \pm 0.97$  ve  $11.33 \pm 1.09$  saniye sonra pençe yalama davranışı sergilemişlerdir. Diklofenak, tüm ölçümlerde, pençe yalama davranışı için geçen sürelerin hepsini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde uzatmıştır. Bemiparinin ise sadece 250 Ü/kg dozda ve 30. dakikadaki süreyi uzaması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 14, Şekil 27).

**Tablo 14.** Bemiparinin hot-plate alanında pençe yalama davranışı için geçen süreye etkileri.

Grup adı	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk
<b>Kontrol</b>	$12.50 \pm 0.85$	$11.67 \pm 1.43$	$10.00 \pm 0.97$	$11.33 \pm 1.09$
<b>Bemi-125</b>	$14.00 \pm 1.29$	$12.00 \pm 1.18$	$12.33 \pm 1.63$	$12.50 \pm 1.80$
<b>Bemi -250</b>	$17.67 \pm 1.84^*$	$11.17 \pm 1.30$	$9.50 \pm 0.99$	$12.50 \pm 1.34$
<b>Bemi -500</b>	$14.83 \pm 1.33$	$13.00 \pm 0.82$	$12.17 \pm 0.91$	$13.83 \pm 1.22$
<b>Diklofenak</b>	$18.83 \pm 1.38^*$	$16.67 \pm 0.88^*$	$15.83 \pm 0.87^*$	$15.00 \pm 1.32^*$

\* $p < 0.05$ , gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.



**Şekil 27.** Bemiparinine ait hot plate testi sonuçları.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, pek çok kardiyovasküler sistem hastalıklarının tedavi ve profilaksisinde kullanılan farklı heparin türevlerinden standart heparinin ve düşük molekül ağırlıklı heparin türevlerinden bemiparin ve enoksaparinin antiinflamatuvar etkisi sıçanlarda karragenin ile oluşturulan akut inflamasyon modelinde araştırılmıştır. Akut inflamasyon modelinde en etkili bulunan dozların kronik inflamasyon üzerine etkileri ise koton pellet granüloma yöntemiyle test edilmiştir. Ayrıca, heparin türevlerinin analjezik etkilerinin olup olmadığı da hot-plate testi ile değerlendirilmiştir.

Deneylemizimizin sonuçlara göre heparin sodyum 100 ve 1000 Ü/kg dozlarda karragenin ile oluşturulan akut inflamasyon (pençe ödemi) üzerinde 2 ve 3.saatlerde istatistiksel olarak anlamlı anti-inflamatuvar etki göstermiştir. Bemiparin sodyum ise sadece 125 Ü/kg dozda 1, 2 ve 3.saatlerde karragenin inflamasyonunu anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Ancak, enoksaparin sodyumun yaptığı pençe ödemi üzerindeki azalmalar ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Deneysel olarak, inflamasyon oluşturmak amacıyla pek çok inflamatuvar ajan kullanılmaktadır. Bunlardan lambda-karragenin en çok kullanılan maddedir. Karagenin inflamasyonu akut inflamasyonun klasik bir modeli olarak kabul edilir ve prostaglandinler ve diğer inflamasyon mediatörlerinin salınımı ile gerçekleşir (117, 118). Karragenin inflamasyonu erken ve geç fazdan oluşur. Erken faz enjeksiyondan sonraki birinci saatte meydana gelir; serotonin, histamin ve bradikinin salınımı ile karakterizedir. Geç faz ise ilk 1 saatten sonraki 3 saat veya daha uzun süreyi kapsar ve prostaglandin oluşumuna bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir. Ayrıca, geç fazda nötrofil infiltrasyonunun yanı sıra serbest oksijen radikalleri, NO (nitrik oksid) ve pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1) de rol oynadığı bildirilmektedir. Yapılan araştırmalarda karagenin ödeminin ve özellikle geç fazın prostaglandin sentezinde rol oynayan COX enzimini inhibe eden bileşiklere duyarlı olduğu bildirilmiştir (5, 117, 119-123). Bizim sonuçlarımıza göre, heparin sodyum ve bemiparin sodyum karragenin inflamasyonunun hem erken hem de geç fazını inhibe etmiştir. Heparin sodyum ve bemiparin sodyumun karragenin inflamasyonunun hem erken hem de geç aşamasında etkili olması histamin, serotonin, bradikinin ve PG oluşumunu baskılamaları sonucundan kaynakladığını düşünüyoruz (120). Ayrıca, çalışmamızın sonunda, hayvanların sağ ve sol arka ayakları kesilerek, her iki ayak hassas terazi ile

ölçülmüştür. Her iki ayak arasındaki ağırlık farkları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, heparin sodyumun uyguladığımız tüm dozlarda (100, 500 ve 1000 Ü/kg) belirgin anti-inflamatuvar etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, pençe ödemi çalışmasından elde edilen sonuçlarımızı desteklemektedir.

Karragenin ile oluşturulan pençe ödeminde PMN nötrofil infiltrasyonunun önemli rol oynadığı bilinmektedir (123). Bundan dolayı, çalışmamızda heparin türevlerin PMN nötrofil infiltrasyonu üzerine etkileri de histopatolojik bakımından araştırılmıştır. Bu histopatolojik incelemesinden elde edilen sonuçlara göre heparin sodyum uyguladığımız tüm dozlarda (100, 500 ve 1000 Ü/kg) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PMN nötrofil infiltrasyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlarımız da, pençe ödemi ve ayak ağırlıkları çalışmasından elde edilen sonuçlarımızı desteklemektedir. Çalışmamızda standart ilaç olarak kullandığımız diklofenak, hayvanların pençe ödemi, her iki ayak arasındaki ağırlık farklarını ve histolojik olarak PMN nötrofil infiltrasyonunu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulguların, literatürde bildirilen bulgularla uyumlu olduğunu gözlemledik.

Hanaohe ve Jones (112), yaptıkları bir çalışmada karragenin enjeksiyondan 30 dakika önce subkütan verilen heparinin 2.saatten 6.saate kadar lokal inflamasyonu belirgin bir şekilde azalttığını tespit etmişler; kullandıkları heparinin, Hageman faktörün etkilerini bozarak pençe ödemi azalttığını ve bu etkisinde endojen heparinin de katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir.

Karragenin ile oluşturulan inflamasyonda fibrinin rolünün olup olmadığını araştırmak amacıyla Wiseman ve Chang (124) tarafından bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre karragenin inflamasyonunda medyana gelen pençe ödemindeki artışı, hem fibrin oluşumu ve hem de oluşmuş fibrinin parçalanmasını inhibe eden ajanlar tarafından bloke edildiğini göstermişlerdir. Bu ajanlardan, pivalin (2-pivaloyl-1,3-indandion) protrombin deplesyonu yaparak, heparin sodyumun protrombinin trombine dönüşümünü inhibe ederek ve trombolizinin (insan plazmini) fibirinoliz olayını azaltarak hayvanlarda pençe ödemi oluşumunu inhibe ettiklerini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlara göre, karragenin ile oluşturulan pençe ödem artışı ile koagülasyon olayı arasında yakın ilişki olduğunu ve bu ilişkide fibrinin çok önemli rol oynadığını öne sürmüşlerdir. Cirino ve arkadaşları, sıçanlarda deneysel inflamasyon modelinde trombinin biyolojik etkileri araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre, spesifik trombin inhibitörü olan

Hirulogun sıçanlarda karragenin ile oluşturulan pençe ödeminin hem erken hem de geç fazını belirgin bir şekilde azalttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlardan yola çıkarak trombinin karragenin inflamasyonunda önemli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, aynı çalışmada sıçan pençesine trombin enjekte ederek pençe ödemi oluşturmuşlar ve trombinin inflamatuvar bir mediatör olduğunu, trombin reseptörlerini (proteaz ile aktive edilen reseptörleri=PAR<sub>1-4</sub>) aktive ederek mast hücrelerinden vazoaaktif aminlerin salgılanmasına yol açtığını ve PMN lökositlerde kemotaksi yaptığını, dolayısıyla inflamasyon olaylarında oldukça önemli rol oynadığını öne sürmüşlerdir (12).

İnflamatuvar yanıtta, enfeksiyon, doku yaralanması ve travmaya karşı interlökin-I' in önemli olduğunu bildirilmektedir (31, 125). Jones ve Geczy (126), trombin ve faktör Xa'nın interlökin-I (IL-1) üretimi üzerine etkileri araştırmışlar; trombin ve faktör Xa'nın IL-1 üretimini artırdığını tespit etmişlerdir. Trombinin interlökin-I üretimi üzerinde daha etkili olduğunu ve heparinin trombin, faktör Xa ve lipopolisakarid (LPS) ile indüklenen IL-1 üretimi de azalttığını tespit etmişlerdir.

Cirino ve arkadaşları sıçanlarda deneysel akut inflamasyon modelinde pıhtılaşma proteazlarının etkilerini test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, sıçan pençesine enjekte edilen faktör Xa'nın(10–30 µg) pençe ödeminin neden olduğunu ve karragenin ile oluşturulan pençe ödeminin de potansiyalize ettiğini tespit edilmiştir. Ancak, faktör IXa' nın sıçan pençesine enjekte edilmesi ise yeterli pençe ödemi yapmamıştır. Faktör Xa'nın efektör hücre proteaz reseptör-1 (EPR-1)'e bağlanarak pençe ödemi oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. EPR-1-FaktörXa kompleksi ile oluşan inflamasyonun histamin/serotonin antagonistleri (siproheptadin ve metizerjid) ile inhibe edildiğini fakat spesifik trombin inhibitörü (Hirulog) ile inhibe edilmediğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlardan yola çıkarak, faktör Xa'nın EPR-1 aracılığı ile akut inflamasyonun bir mediatörü olarak görev yaptığını öne sürmüşlerdir (127).

Salas ve arkadaşları, heparinin akut inflamatuvar yanıtta önemli rol oynayan lökosit-endotel yapışma moleküllerinin fonksiyonu üzerinde ortadan kaldırıcı etkisinin olup olmadığını araştırdıkları bir çalışmada, heparinin proinflamatuvar TNF- $\alpha$ 'nın etkilerini inhibe ederek antikoagulan etkisinden bağımsız bir şekilde anti-inflamatuvar etki yaptığını ortaya koymuşlardır (128).

Wang ve arkadaşları, heparin ve modifiye edilmiş analogların, selektin inhibitörü etkilerinin olup olmadığını test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, heparin ve analoglarının P-selektin ve L-selektin'i inhibe ederek güçlü anti-inflamatuvar etki yaptıklarını tespit etmişlerdir. Heparin ve modifiye edilmiş analogların bu etkiyi yapmaları için 6. karbonlarında bulunan glukozaminin sülfatlanmasının gerekli olduğunu da ileri sürmüşlerdir (129).

Dotan ve arkadaşları, sıçanlarda oluşturulan deneysel kolit üzerine düşük doz enoksaparin ve standart heparinin etkisini araştırmışlar ve düşük doz enoksaparin ve standart heparinin deneysel kolitin iyileşmesine neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu ilaçların kolite karşı gösterdikleri olumlu etkilerin anti-inflamatuvar etkilerine bağlı olduğunu da öne sürmüşler (130).

Koton pellet testi ilaçların antiproliferatif etkilerinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir kronik inflamasyon modelidir (82). Deneyimizin ikinci serisinde karragenin inflamasyonundaki çalışmamızda en etkili bulunan heparin, enoksaparin ve bemiparin dozlarının kronik inflamasyona etkileri koton-pellet granüloma modelinde diklofenak ve prednisolon ile karşılaştırılarak test edildi. Heparin ya da bemiparin alan sıçan gruplarından çıkarılan pamuk (koton) bilyelerin hacmi makroskopik olarak incelendiğinde kontrol grubuna göre oldukça küçüktü. Ayrıca, kontrol grubundan çıkarılan bilyelerin çevresinde çok fazla granülasyon dokusu bulunmuştur ve bu dokularda belirgin hiperemi gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, heparin ve bemiparin uygulamaları ile cilt altına yerleştiren bilyelerin hem yaş hem de kuru ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Fakat enoksaparin bu modelde de yeterli antiproliferatif etki göstermemiştir. Heparin ve standard ilaç olarak kullandığımız diklofenak birbirine benzer antiproliferatif etkiler sergilemişlerdir ve etkileri arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

Sıçanlarda cilt altı yerleştiren koton pelletlere karşı gelişen inflamatuvar cevabın üç fazdan oluştuğu bildirilmektedir. Bunlar transüdatif, eksüdatif ve proliferatif faz olarak adlandırılır. Transüdatif faz, koton pelletlerin cilt altı yerleştirilmesinden hemen sonra başlar ve ilk üç saatte maksimum düzeye ulaşır. Bu faz koton bilyelerin yaş ağırlıklarının artması ile karakterizedir. Eksüdatif faz, koton pelletlerin cilt altı konulduktan sonraki 3. ila 72. saatler arasında medyana gelir ve oluşan granülom etrafında exudasyon oluşur. Proliferatif faz ise, koton bilyelerin



kuru ağırlıklarının artması ile ölçülür ve bu bilyelerin cilt altına yerleştirilmesinden sonra 3. ila 6. günler arasında gerçekleştiği bildirilmektedir (131).

Durmaz ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmaya göre (132), heparin ve enoksaparinin 7 gün-günde 1 kez uygulanması sıçanlarda yara iyileşmesini hızlandırmıştır. Bu çalışmada, heparin ve enoksaparinin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri de karşılaştırılmış ve deney sonuçlarına göre enoksaparin daha belirgin iyileştirici etki göstermiştir. Dolayısıyla, yara iyileşmesinde inflamasyonun önemli olaylardan biri olduğu bilinmektedir (133).

Çalışmamızda heparin ve bempiparinin cilt altına yerleştiren bilyelerin hem yaş hem de kuru ağırlıklarını anlamlı bir şekilde azaltmış olmalarını, inflamatuvar yanıtta bilyelere karşı gelişen transüdatif ve proliferatif fazı bloke etmeleri sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

Heparin türevlerinin akut antinosiseptif etkinliklerinin belirlenmesi için hot plate testi kullanılmıştır. Hot plate testi, ilaçların veya kimyasal maddelerin analjezik aktivitelerini araştırmak için en sık kullanılan bir modeldir. Bu modelde akut termal uyarı ile nosisepsiyon oluşturulur (134). Çalışmamızda, heparin türevlerinin sıçanların hot-plate alanında kalma (latent) sürelerini uzatma potansiyelleri değerlendirilmiştir. Standard ilaç olarak kullandığımız diklofenak 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda, pençe yalama davranışı için geçen sürelerin hepsini belirgin bir şekilde uzatmıştır. Heparin tüm dozlarda sadece 30. dakikalardaki pençe yalama davranışı için geçen süreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde uzatırken, bempiparin sadece düşük dozda (250 U/kg) yine 30. dakikadaki pençe yalama davranışı için geçen süreyi anlamlı olarak uzatmıştır. Enoksaparin ise tüm dozlarda genel olarak pençe yalama davranışı için geçen sürelerin belirgin bir de uzamasına neden olmuştur. Balasubramanian ve arkadaşları tarafından sabit doz heparin ve diklofenak içeren topikal jel preparatlarının analjezik etkileri farelerde formalin ile oluşturulan ağrı modelinde ve antinflamatuvar etkisi ise sıçanlarda karragenin ile oluşturulan pençe ödemi modelinde test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, kombine heparin ve diklofenak preparatı, tek başına diklofenak veya heparin içeren preparatlara göre daha belirgin analjezik ve antinflamatuvar etki göstermiştir (135). Birinci ve ikinci derece yanık iyileşmesinde lokal uygulanan heparin ile ilgili olarak birçok çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, heparinin analjezik, anjiyogenik ve anti-inflamatuvar etki yaparak yara iyileşmesini hızlandığını göstermektedir. Ayrıca, yanıklı hastaların tedavisinde, heparinin ağrı giderici etkisinin de olduğu ve

bu etkisini TNF- $\alpha$ 'yı inhibe etmesinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (136-139). Agbenorku ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada da heparinin lokal olarak uygulanması 1. ve 2. derece yanıklı hastalarda analjezik ilaçların gereksinimi belirgin bir şekilde azaltmış ve heparinin ağrı giderici etkiye sahip olduğu bildirmişlerdir. Yukarıda belirtilen literatür bilgileri, çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlarımızla uyumludur (140).

Sonuç olarak, kullandığımız heparin türevlerinden standat heparin ve düşük molekül ağırlıklı heparin türevi bemiparin sıçanlarda deneysel olarak oluşturduğumuz akut ve kronik inflamasyon modellerinde anti-inflamatuvar etki göstermişlerdir.

Bu ilaçların anti-inflamatuvar etkilerinin, anti-koagulan ve anti-trombotik özelliklerinden kaynaklanabileceğini, göstermiş oldukları ağrı giderici etkilerinin antiinflamatuvar etkilerine katkı sağlayabileceğini, ayrıca kronik inflamasyon modelinde sergiledikleri antiproliferatif etkinin ise kronik inflamatuvar hastalıkların tedavi süreçleri için bir ışık olabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda, anti-Xa/anti-IIa aktiviteleri farklılık gösteren heparin türevlerinden standart heparinin ve düşük molekül ağırlıklı heparin türevlerinden bemiparin ve enoksaparinin antiinflamatuvar etkisi sıçanlarda karragenin ile oluşturulan akut inflamasyon modelinde araştırıldı.
- Akut inflamasyon modelinde en etkili bulunan dozların kronik inflamasyon üzerine etkileri ise koton pellet granüloma yöntemiyle test edildi.
- Ayrıca, heparin türevlerinin analjezik etkilerinin olup olmadığı da hot-plate testi ile değerlendirildi.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre:

- Heparin karragenin ile oluşturulan akut inflamasyon üzerine belirgin anti-inflamatuvar etki göstermiştir.
- Bemiparin deneyde kullanılan dozlardan sadece 125 Ü/kg dozda karragenin ile oluşturulan pençe ödemi anlamlı bir şekilde azaltmıştır.
- Ancak, enoksaparinin yaptığı pençe ödemi üzerindeki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
- Koton pellet granuloma testinde, heparin ve bemiparin belirgin antiproliferatif etki göstermiştir. Fakat enoksaparin bu modelde de yeterli antiproliferatif etki göstermemiştir.
- Hot plate testinde, heparin tüm dozlarda sadece 30. dakikalardaki pençe yalama davranışı için geçen süreleri belirgin bir şekilde uzatırken, bemiparin sadece 250 U/kg doza yine 30. dakikadaki pençe yalama davranışı için geçen süreyi anlamlı olarak uzatmıştır. Enoksaparin ise tüm dozlarda genel olarak pençe yalama davranışı için geçen sürelerin belirgin bir şekilde uzamasına neden olmuştur.

## 7. KAYNAKLAR

1. Weiss U. Inflammation. *Nature* 454:427, 2008.
2. Ma Y, Li Y, Li X, Wu Y. Anti-inflammatory effects of 4-methylcyclopentadecanone on edema models in mice. *Int J Mol Sci* 14: 23980-23992, 2013.
3. Xu Q, Wang Y, Guo S, Shen Z, Wang Y, Yang L. Anti-inflammatory and analgesic activity of aqueous extract of *Flos populi*. *J Ethnopharmacol* 152: 540–545, 2014.
4. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 420: 846–852, 2002.
5. Liao JC, Tsai JC, Peng WH, Chiu YJ, Sung PJ, Tsuzoki M and Kuo YH. Anti-inflammatory activity of N-(3-Florophenyl) ethylcaffeamide in mice. *Int J Mol Sci* 14: 15199-15211, 2013.
6. White M. Mediators of inflammation and the inflammatory process. *J Allergy Clin Immunol* 103: S378-81, 1999.
7. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454: 428-435, 2008.
8. Young E. The anti-inflammatory effects of heparin and related compounds. *Thromb Res* 122(6): 743-52, 2008.
9. Levi M, van der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med* 38(2): S26–S34, 2010.
10. Popovic M, Smiljanic K, Dobutovic B, Syrovets T, Simmet T, Isenovic ER. Thrombin and vascular inflammation. *Mol Cell Biochem* 359(1-2): 301–313, 2012.
11. Okamoto T, Tanigami H, Suzuki K, Shimaoka M. Thrombomodulin: A bifunctional modulator of inflammation and coagulation in sepsis. *Crit Care Res Pract* 1-10, 2012.
12. Cirino G, Cicala C, Rosaria BM, Sorrentino L, Maraganore J, Stone S. Thrombin functions as an inflammatory mediator through activation of its receptor. *J Exp Med* 183: 821-827, 1996.
13. Flower RJ. Lipocortin and the mechanism of action of the glucocorticoids. *Br J Pharmacol* 94: 987-1015, 1988.
14. Vane J, Botting R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. *FASEB J* 1: 89-96, 1987.

15. Page C. Heparin and related drugs: Beyond anticoagulant activity. *ISRN Pharmacol* 1-13, 2013.
16. Oduah EI, Linhardt RJ, Sharfstein ST. Heparin: past, present, and future. *Pharmaceuticals* 9(38): 1-12, 2016.
17. Gray E, Mulloy B, Barrowcliffe TW. Heparin and low-molecular-weight heparin. *Thromb Haemost* 99: 807–818, 2008.
18. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 119: 64S–94S, 2001.
19. Yoon J, Baek SJ. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei Med J* 46: 585-596, 2005.
20. Tadele A, Asres K, Melaku D, Mekonnen W. In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activities of the leaf extracts of *Clematis simensis* Fresen. *Ethiop Pharm J* 27: 33-41, 2009.
21. De las Heras B, Hortelano S. Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids. *Inflamm Allergy Drug Targets* 8: 28-39, 2009.
22. Arul John NA, Shobana G. Anti-inflammatory activity of *Talinum fruticosum* L. on formalin induced paw edema in albino rats. *JAPS* 02 (01): 123-127, 2012.
23. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Robbins Basic Pathology*. 8th edition. Philadelphia: Saunders, 2007.
24. Kular L, Pakradouni J, Kitabgi P, Laurent M, Martinerie C. The CCN family: A new class of inflammation modulators? *Biochimie* 93: 377-388, 2011.
25. Stables MJ, Gilroy DW. Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. *Prog Lipid Res* 50: 35-51, 2011.
26. Talwara S, Nandakumara K, Nayaka PG, Bansala P, Mudgala J, Mora V, Rao CM, Lobo R. Anti-inflammatory activity of *Terminalia paniculata* bark extract against acute and chronic inflammation in rats. *J Ethnopharmacol* 134: 323-328, 2011.
27. Şentürk N. Kütanöz inflamasyon. *Turkderm* 47 (Suppl 1): 28-36, 2013.
28. Calder PC. n–3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 83: 1505S-1519S, 2006.
29. Cirino G. Multiple controls in inflammation. *Biochem Pharmacol* 55: 105-111, 1998.

30. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. *N Engl J Med* 343: 37-49, 2000.
31. Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci* 2: d12-26, 1997.
32. Leitch AE, Haslett C, Rossi AG. Cyclin-dependent kinase inhibitor drugs as potential novel anti-inflammatory and pro-resolution agents. *Br J Pharmacol* 158: 1004-1016, 2009.
33. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar mediatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg* 16(3): 143-152, 2006.
34. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Histamine and histamine receptors in pathogenesis and treatment of multiple sclerosis. *Neuropharmacol* 59: 180-189, 2010.
35. Kay AB. Allergy and allergic diseases. *N Engl J Med* 344: 30-37, 109-113, 2001.
36. Passani MB, Blandina P. Histamine receptors in the CNS as targets for therapeutic intervention. *Trends Pharmacol Sci* 32: 242-249, 2011.
37. Serhan CN, Chiang N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *Br J Pharmacol* 153: S200-S215, 2008.
38. Huwiler A, Pfeilschifter J. Lipids as targets for novel anti-inflammatory therapies. *Pharmacol Ther* 124: 96-112, 2009.
39. Ricciotti E, and FitzGerald, GA. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31(5): 986–1000, 2011.
40. Marnett LJ, Rowlinson SW, Goodwin DC, Kalgutkar AS, Lanzo CA. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2: Mechanisms of catalysis and inhibition. *J Biol Chem* 274 (33): 22903–22906, 1999.
41. Gökşen US, Kelekçi NG. Antiinflamatuvar tedavide yeni bir yaklaşım: Siklooksijenaz ve 5-Lipooksijenazın dual inhibitörleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 30(1): 81-118, 2010.
42. Yu Y, Cheng Y, Fan J, Chen XS, Klein-Szanto A, FitzGerald G A, and Funk CD. Differential impact of prostaglandin H synthase 1 knockdown on platelets and parturition. *J Clin Invest* 115: 986–995, 2005.
43. Samad TA, Sapirstein A, Woolf CJ. Prostanoids and pain: unraveling mechanisms and revealing therapeutic targets. *Trends in Molec Med* 8 (8): 390-396, 2002.

44. Pettipher R, Hansel TT, Armer R. Antagonism of the prostaglandin D2 receptors DP1 and RTH2 as an approach to treat allergic diseases. *Nat Rev Drug Discov* 6: 313–325, 2007.
45. Rolin S, Masereel B, Dogné J. Prostanoids as pharmacological targets in COPD and asthma. *Eur J Pharmacol* 533: 89-100, 2006.
46. Funk CD, FitzGerald GA. COX-2 inhibitors and cardiovascular risk. *J Cardiovasc Pharmacol* 50: 470–479, 2007.
47. Félétou M, Verbeuren TJ, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions in SHR: a tale of prostanoid TP and IP receptors. *Br J Pharmacol* 156: 563–574, 2009.
48. Smith WL, Garavito RM, DeWitt DL. Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and -2. *J Biol Chem* 271 (52): 33157-33160, 1996.
49. Haeggstrom JZ, Wetterholm A. Enzymes and receptors in the leukotriene cascade. *Cell Mol Life Sci* 59: 742-753, 2002.
50. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN. Leukotriene and Lipoxins: Structures, biosynthesis and biological effects. *Science* 237 (4819): 1171-1175, 1987.
51. Di Gennaro, Haeggström. The leukotrienes: immune-modulating lipid mediators of disease. *Adv Immunol* 116: 51-92, 2012.
52. Haeggstrom JZ, Kull F, Rudberg PC, Tholander F, Thunnissen MM. Leukotriene A4 hydrolase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 68: 495-510, 2002.
53. Peters-Golden M, Henderson WR. Leukotrienes. *N Engl J Med* 357: 1841–1854, 2007.
54. Honda Z, Ishii S, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor. *J Biochem* 131: 773–779, 2002.
55. Aghabeigi B. The pathophysiology of the pain. *Br Dent J* 173: 91–97,1992.
56. Verri Jr WA, Cunha TM, Parada CA, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? *Pharmacol Ther* 112: 116-138, 2006.
57. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 340: 448-454, 1999.
58. Choy R, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 344: 907-916, 2001.

59. Ember JA, Hugli TE. Complement factors and their receptors. *Immunopharmacol* 38: 3 – 15, 1997.
60. Markiewski MM, Lambris JD. The Role of Complement in Inflammatory Diseases From Behind the Scenes into the Spotlight. *Am J Pathol* 171: 715–727, 2007.
61. Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nature immunol* 11(9): 785-797, 2010.
62. Wills-Karp M. Complement activation pathways. *Proc Am Thorac Soc* 4: 247–251, 2007.
63. Phieler J, Garcia-Martin R, Lambris JD, Chavakis T. The role of the complement system in metabolic organs and metabolic diseases. *Semin Immunol* 25: 47–53, 2013.
64. Abraham WM, Scuri M, Farmer SG. Peptide and non-peptide bradykinin receptor antagonists: Role in allergic airway disease. *Eur J Pharmacol* 533: 215-221, 2006.
65. Blais JrC, Marceau F, Rouleau J, Adam A. The kallikrein-kininogen-kinin system: lessons from the quantification of endogenous kinins. *Peptides* 21: 1903-1940,2000.
66. Strukova S. Blood coagulation-dependent inflammation. Coagulation-dependent inflammation and inflammation-dependent thrombosis. *Frontiers in Biosci* 11: 59-80, 2006.
67. Mitta M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal* 20(7): 1126–1167, 2014.
68. Rizk M, Witte M, Barbul A. Nitric oxide and wound healing. *World J Surg* 28: 301-306, 2004.
69. Coleman JW. Nitric oxide: A regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation. *Clin Exp Immunol* 129: 4-10, 2002.
70. Petaja J. Inflammation and coagulation. An overview. *Thromb Resear* 127 (S2): S34–S37, 2011.
71. O'Brien M. The reciprocal relationship between inflammation and coagulation. *Topics in Compan An Med* 27: 46-52, 2012.
72. D'Angelo G. Inflammation and Coagulation: A “Continuum” Between Coagulation Activation and Prothrombotic State. *J Blood Disord* 2(1): 1-5, 2015.



73. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 131: 417–430, 2005.
74. Coughlin SR. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *J Thromb Haem* 3(8): 1800–1814, 2005.
75. Mackman. The many faces of tissue factor. *J Thromb Haem* 7(1): 136–139, 2009
76. Özbek H, Öztürk A. Antienflamatuvar Etkinliğin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler. *Van Tıp Dergisi*: 10 (1): 23-28, 2003.
77. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rats as an assay for antiinflammatory drugs: Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine 111: 544-547, 1962.
78. Ahmadiani A, Javan M, Semnianian S, Barat E, Kamalineja M: Anti-inflammatory and antipyretic effect of *Trigonella foenum-graceum* leaf extract in the rat. *J Ethnopharmacol* 75: 283-86, 2001.
79. Kouadio F, Kanko C, Juge M, Grimaud N, Jean N'Guessan AYT and Petit JY: Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Pytother Res* 14: 635-637, 2000.
80. Lopes-Martins RAB, Pegoraro DH, Woisky R, Penna SC, Sertié JAA: The anti-inflammatory and analgesic effects of a crude extract of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). *Phytomedicine* 9: 245-248, 2002.
81. Olajide OA, Makinde JM, Okpako DT, Awe SO: Studies on the anti-inflammatory and related pharmacological properties of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark. *J Ethnopharmacol* 71: 153-160, 2000.
82. Winter CA and Porter CC. Effect of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glycogen activities of hydrocortisone esters. *JAPhA* 46(9): 515-519, 1957.
83. Narayanan N, Thirugnanasambantham P, Viswanathan S, Kannappa Reddy M, Vijayasekaran V, Sukumar E. Antipyretic, antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Premna herbacea* roots. *Fitoterapia* 71: 147-153, 2000.
84. Loeser JD, Treede RD. The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology. *Pain* 137: 473–477, 2008.
85. Kutsal YG, Varlı K, Çeliker R, Özer S, Orer H, Aypar Ü, Şiahin A, Oruçkaptan H. Ağrıya multidisipliner yaklaşım. *Hacettepe Tıp Dergisi* 36: 111-128, 2005.

86. Akyatan N. Serotonin ve Ağrı. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 3: 1-2, 1993.
87. Kidd BL ve Urban LA. Mechanism of inflammatory pain. B J Anaesth 87(1): 3-11, 2001
88. Aydın ON. Ağrı ve ağrı mekanizmalarına güncel bakış. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 3(2): 37-48, 2002.
89. Dray A. İnflammatory mediators of pain. B J Anaesth 75: 125-131, 1995.
90. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal Models of Nociception. Pharmacol Rev 53: 597-652, 2001.
91. Dinarello CA. Anti-inflammatory Agents: Present and Future. Cell 140(6): 935-50, 2010.
92. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids-new mechanisms for old drugs. N Engl J Med 353: 1711-1723, 2005.
93. Ardoin SP, Sundry JS. Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Curr Opin Rheumatol 18: 221-226, 2006.
94. Hilário MOE, Terreri MT, Len CA. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: cyclooxygenase 2 inhibitors. J Pediatr 82(5): S206-212, 2006.
95. Stovitz SD, Johnson RJ. NSAIDs and musculoskeletal treatment. What is the clinical evidence? Physician Sports Med 31: 35-40, 2003.
96. Karch AM. Focus on nursing pharmacology. 5<sup>th</sup> edition. Lippincott Williams and Wilkins Baltimore USA, 2011.
97. Kawai S, Kojima F and Kusunoki N. Recent advances in nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Allergology International 54: 209-215, 2005.
98. Waller DG, Sampson AP, Renwick AG, Hillier K. Medical Pharmacology and Therapeutics. 4<sup>th</sup> edition. Saunders pp. 359-366, 2014.
99. Abramson S, Korchak H, Ludewig R, Edelson H, Hanes K, Levin RI, Herman R, Rider L, Kimmel S, Weissmann G. Modes of action of aspirin-like drugs. Proc Nat Acad Sci 82: 7227-7231, 1985.
100. Venerito M, Wex T, Malfertheiner P. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastroduodenal bleeding: Risk factors and prevention strategies. Pharmaceuticals 3: 2225-2237, 2010.
101. Solomon DH. NSAIDs: Mechanism of action. Up To Date 17: 2, 2009.

102. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci* 99: 13926-13931, 2002.
103. Brune K, Hinz B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. *Scand J Rheumatol* 33: 1-6, 2004.
104. Vonkeman HE, van de Laar MAFJ. Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs: Adverse effects and their prevention. *Semin Arthritis Rheum* 39(4): 294-312, 2010.
105. Ong CKS, Lirk P, Tan CH, Seymour RA. An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *CM & R* 5(1): 19-34, 2007.
106. Sinha M, Gautam L, Shukla PK, Kaur P, Sharma S, Singh TP. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. *Mediators of inflamm* 1-12, 2013.
107. Sostres C, Gargallo CJ and Lanás A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage. *Arthritis Res Ther* 15(S3): 1-8, 2013.
108. Yıldız A, Özsoy Y. Heparin 'in Yeni Farmasötik Yaklaşımları. *Ankara Ecz Fak Derg* 36 (3): 183-198, 2007.
109. Paschoa AF. Heparin: 100 years of pleiotropic effects. *J Thromb Thrombolysis* 41: 636–643, 2016.
110. Xu X, Dai Y. Heparin: an intervenor in cell communication. *J Cell Mol Med* 14(1-2): 175-180, 2010.
111. Mastrolia SA, Mazor M, Holcberg G, Leron E, Beharier O, Loverro G, Erez O. The physiologic anticoagulant and anti-inflammatory role of heparins and their utility in the prevention of pregnancy complications. *Thromb Haemost* 113: 1236–1246, 2015.
112. Hanaohe THP, Jones DR. Heparin and acute inflammation in rat. *Int Arch Allergy and Immun* 86: 243-244, 1988.
113. Downing LJ, Strieter RM, Kadell AM, Wilke CA, Greenfield LJ, and Wakefield TW. Low dose low molecular weight heparin is anti-inflammatory during venous thrombosis. *J Vasc Surg* 28: 848-854, 1998.

114. Okutan H, Eroğlu E, Karahan N, Aydın A, Tunç B, Çandır Ö, Kutsal A. Farklı düşük moleküler ağırlıklı heparinlerin (dalteparin, nadroparine, enoxaparin) ve standart heparinin sıçan venöz tromboz modelinde karşılaştırılması. *Turkish J Vasc Surg* 13(2): 17-22, 2004.
115. Halici Z, Dengiz GO, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Halici M. Amiodarone has anti-inflammatory and anti-oxidative properties: an experimental study in rats with carrageenan-induced paw edema. *Eur J Pharmacol* 566: 215–221, 2007.
116. Ozbakis Dengiz G, Halici Z, Akpinar E, Cadirci E, Bilici D, Gursan N. Role of polymorphonuclear leukocyte infiltration in the mechanism of anti-inflammatory effect of amiodarone. *Pharmacol Rep* 59: 538-544, 2007.
117. Keleş O, Bakirel T, Şener S, Aydın H. Ratlarda *Polygonum lapathifolium*'un antiinflamatuvar ve antipiretik aktivitesi. *Turk J Vet Anim Sci* 25: 623-628, 2001.
118. Tunon, H, Olavsdotter, C, Bohlin, L. Evaluation of antiinflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. *J Ethnopharmacol* 48: 61-76, 1995.
119. Vinegar R, Schreiber W, Hugo R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Therap* 166 (1): 96-103, 1968.
120. DiRosa, M. Biological properties of carrageenan. *J Pharm Pharmacol* 24: 89–102, 1972.
121. Olajide, OA, Makinde JM, Awe, SO. Effects of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark on carrageenan-induced oedema and granuloma tissue formation in rats and mice. *J Ethnopharmacol* 66: 113-117, 1999.
122. Posadas I, Bucci M, Roviezzo F, Rossi A, Parente L, Sautebin L, Cirino G. Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British J Pharmacol* 142: 331–338, 2004.
123. Sadeghi H, Hajhashemi V, Minaiyan M, Movahedian A, Talebi A. A study on the mechanisms involving the anti-inflammatory effect of amitriptyline in carrageenan-induced paw edema in rats. *European J Pharmacol* 667: 396–401, 2011.
124. Wiseman HE and Chang Y. The role of fibrin in the inflammatory response to carrageenin. *J Pharmacol Exp Therap* 159: 206-210, 1968.

125. Rena Ke and Torres R. Role of interleukin-1 $\beta$  during pain and inflammation. *Brain Res Rev* 60(1): 57–64, 2009.
126. Jones A, Geczy C L. Thrombin and Factor Xa enhance the production of interleukin-1. *Immunology* 71: 236-241, 1990.
127. Cirino G, Cicala C, Bucci M, Sorrentino L, Ambrosini G, DeDominicis G, and Altieri CD. Factor Xa as an Interface Between Coagulation and Inflammation. *J Clin Invest* 99: 2446–2451, 1997.
128. Salas A, Sans M, Soriano A, Reverter JC, Anderson DC, Piqué JM, Panés J. Heparin attenuates TNF- $\alpha$  induced inflammatory response through a CD11b dependent mechanism. *Gut* 47: 88–96, 2000.
129. Wang L, Brown JR, Varki A, Esko JD. Heparin's anti-inflammatory effects require glucosamine 6-O-sulfation and are mediated by blockade of L- and P-selectins. *J Clin Invest* 110: 127–136, 2002.
130. Dotan I, Hershkovich R, Karmeli F, Brazowski E, Peled Y, Rachmilewitz D, Halpern Z. Heparin and low-molecular-weight heparin (enoxaparin) significantly ameliorate experimental colitis in rats. *Aliment Pharmacol Ther* 15: 1687-1697, 2001.
131. Swingle KF, Shideman FE. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. *J Pharmacol Exp Ther* 183: 226-234, 1972.
132. Durmaz CE, Ozkan A, Senel B, Uyar HA. Comparison of effects of unfractionated heparin and low molecular weight heparin on skin wound healing of rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 27 (9): 639-644, 2012.
133. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 453(7193): 314–321, 2008.
134. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience* 211: 39-50, 2012.
135. Balasubramanian J, Sai Sugathri K, Jothi K, Nandhini GA and Hariram S. Analgesic and anti-inflammatory activity of novel (fixed dose) topical gel containing diclofenac combination with heparin. *WJPPS* 5(3): 1077-1094, 2016.
136. Barretto MGP, Figueira Costa MGN, Freitas Serra MCV, Afiune JB, Praxedes HEP, Pagani E. Comparative study of conventional and topical heparin treatments for burns analgesia. *Rev Assoc Med Bras* 56(1): 51-55, 2010.

137. Ferreira Chacon JM, de Andrea MLM, Blanes L, Ferreira LM. Effects of topical application of 10,000 IU heparin on patients with perineal dermatitis and second-degree burns treated in a public pediatric hospital. *J Tissue Viability* 19: 150-158, 2010.
138. Gupta A, Verghese TJ, Gupta P, Gupta AK. Role of topical heparin in the management of burns: experience in a district government hospital of Karnataka in South India. *Plast Aesthet Res* 2: 111-114, 2015.
139. Masoud M, Wani AH, Darzi MA. Topical heparin versus conventional treatment in acute burns: A comparative study. *Indian J Burns* 22: 43-50, 2014.
140. Agbenorku P, Fugar S, Akpaloo J, Hoyte-Williams PE, Alhassan Z, Agyei F. Management of severe burn injuries with topical heparin: The first evidence-based study in Ghana. *Int J Burns Trauma* 3: 30-36, 2013.

## 8. EKLER

### Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.  
**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**



**TOPLANTI TARİHİ** : 11/02/2015  
**TOPLANTI NO** : 2015/01

- 12-** B.E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2015-07-11/02 Protokol no'lu "Değişik Heparin Türevlerinin Sıçanlarda Deneysel Ağrı ve İnflamasyon Modelleri Üzerine Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,

Oy birliği ile karar verildi.

**ASLI GİBİDİR**

**Prof. Dr. Emine YILMAZ SİPAHİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkan V.**

## 9. ÖZGEÇMİŞ

Shemsu Umer Hussen, 1980'de Gidda Ayana, Etiyopya'da doğdu. Orta ve Lise öğrenimini Gidda Ayana'da bitirdikten sonra 2004 yılında Addis Ababa Üniversitesi Eczacılık Okulundan mezun oldu. 2004-2007 yılları arasında Addis Ababa Üniversitesi Eczacılık Okulu Farmakognozi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimini tamamladı. Aynı Üniversitede 2007-2012 yılları arasında öğretim görevlisi olarak görev yaptı. Ekim 2012'den bu yana Bülent Üniversitesinde Tıbbi Farmakoloji üzerine doktora öğrenimini sürdürmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.

### BİLİMSEL YAYINLAR

**Shemsu Umer**, Gizachew Andualem, Fentabil Getnet, Haile Alemayehu, Alemu Tekewe and Nigatu Kebede (2015): Antidiarrheal and antibacterial activities of hydroalcoholic extracts of *Salvia Schimperi* Benth from Ethiopia. International Journal of Pharmacognosy 2(6): 290295.

**Shemsu Umer**, Alemu Tekewe and Nigatu Kebede (2013): Antidiarrhoeal and antimicrobial activity of *Calpurnia aurea* leaf extract. BMC Complementary and Alternative Medicine 13:21.

**Shemsu Umer**, Kaleab Asres and Ciddi Veeresham (2010): Hepatoprotective Activities of Two Ethiopian Medicinal Plants. Pharmaceutical Biology. 48 (4): 461–468.

Fathy EL-Fiky, Kaleab Asres, Simon Gibbons, Hala Hammada, Jihan Badr and **Shemsu Umer** (2008): Phytochemical and Antimicrobial Investigation of Latex from *Euphorbia abyssinica* Gmel. Natural Product Communications. 3(9):1505- 1508.