

# İnflamatuar Ağrı Modelinde Platin-Meloksikam Metal Kompleksinin Anti-Hipernositif Etkileri

## Anti-Hypernociceptive Effects of Platinum-Meloxicam Metal Complex in Inflammatory Pain Models

Selma YAMAN<sup>1</sup>, Seda AVNİOĞLU<sup>2</sup>, Kübra KÜÇÜK<sup>3</sup>, Derya ALAKUŞ<sup>4</sup>, Büşra Nur DEMİRCİ<sup>4</sup>, Harun MUSLU<sup>5</sup>, Ayşegül GÖLCÜ<sup>6</sup>, Tufan MERT<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Yrd. Doç. Dr. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik AD, KAHRAMANMARAŞ

<sup>2</sup> Yrd. Doç. Dr. Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi AD, ANTALYA

<sup>3</sup> Dönem 4 Öğrencisi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, ŞANLIURFA

<sup>4</sup> Dönem 4 Öğrencisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi, KAHRAMANMARAŞ

<sup>5</sup> Öğ. Gör. Dr. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Afşin Meslek Yüksek Okulu, KAHRAMANMARAŞ

<sup>6</sup> Prof. Dr. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, İSTANBUL

<sup>6</sup> Prof. Dr. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik AD, KAHRAMANMARAŞ

### Özet

**Amaç:** Günümüzde, organik veya inorganik elementleri içeren birçok molekül ve makromolekül kompleksleri tıp ve ilgili araştırmalara konu edilmektedir. Bazı Platin (Pt) komplekslerinin kanser tedavisinde kullanılması ile ilgili araştırmalar bu bileşiklere olan ilgiyi daha da arttırmıştır. Bu çalışmada klinik uygulamalarda romatoidartrit, osteoartrit ve miyalji gibi kas ve iskelet sistemine bağlı ağrı ve inflamasyonlu durumlarda tercih edilebilen bir non-streoid olan Meloksikam (MLX)'in, Platin (Pt) ile oluşturulacak kompleksinin (MLX+Pt) inflamasyon modelinde araştırılması ve bu kompleksin etki mekanizmalarına yönelik yeni sonuçların elde edilmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntemler:** Sağlıklı ve inflamatuvar ağrılı (Carrageenan (CAR) kullanılarak) sıçanların duysal fonksiyonları termal plantar test (hiperaljezi için), dinamik plantaraesthesiometer (allodini için) kullanılarak intraplantar olarak uygulanan ilaçların anti-hipernositif etkileri, pençe kütleleri ölçülerek de anti-ödem etkileri değerlendirildi.

**Bulgular:** MLX ve MLX+Pt kompleksi sağlıklı sıçanlarda doza ve zamana bağlı olarak anlamlı anti-nositif etkiler oluşturdu. CAR uygulaması sıçanların pençesinde zaman bağlı olarak gelişen hiper-aljezi, allodini ve ödem gibi inflamatuvar yanıtlar ortaya çıkardı. MLX ve MLX+Pt kompleksi ortaya çıkan hipernositif etkileri zamana ve doza bağlı olarak baskıladı. İnflamasyonlu grupta eşik ve latans değerlerindeki uzatıcı etkiler çok daha fazlaydı. Pt kompleksi, MLX'e göre daha etkili anti-nositif ve anti-hipernositif etkiler meydana getirdi. Benzer şekilde pençe kütlelerindeki artış MLX+Pt tarafından daha fazla baskılandı.

**Sonuç:** Elde edilen veriler, hem MLX hem de MLX+Pt kompleksinin hiper-aljezi ve allodini gelişimini engellemesi bu ilaçların lokal analjezik özelliğini göstermektedir. MLX+Pt kompleksi MLX'in analjezik ve anti-inflamatuvar etkilerini arttırması bu tür bileşiklerin etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik yeni çalışmalara ilgiyi artırabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Ağrı modeli, inflamasyon, meloksikam, platin.

### Abstract

**Objective:** The application of macromolecular complex including organic or inorganic elements to medicine is a rapidly developing field, and novel therapeutic and diagnostic metal complexes are now having an impact on several medical practices. In this study, we were aimed to investigate the anti-hypernociceptive effects of Meloxicam (MLX), a non steroid, and MLX+platinum (Pt) complex in experimental inflammatory pain models.

**Methods:** Anti-hypernociceptive effects of intraplantarly treated MLX and MLX+Pt were searched in healthy and inflammatory (with intraplantar carrageenan (CAR) rats by using thermal plantar test (for hyperalgesia) dynamic plantar aesthesiometer (for allodynia). In addition, paw masses were measured for anti-edema efficiencies of these drugs.

**Results:** In healthy rats, both MLX and MLX+Pt produced anti-nociceptive actions in time and dose dependent manner. Intraplantar CAR caused several inflammatory responses, hyperalgesia, allodynia and edema. MLX and MLX+Pt complex suppressed these hypernociceptive effects with time and dose dependent manner. Anti-nociceptive and anti-hypernociceptive actions of MLX+Pt complex were more than those of MLX. Similarly, MLX+Pt more prevented the increase in paw mass.

**Conclusion:** Anti-hyperalgesic and anti-allodynic actions of MLX and MLX+Pt complex demonstrated that their local analgesic properties. Complex with Pt can cause an increase in analgesic and anti-inflammatory actions of MLX. This may provoke the new studies for clarify the action mechanisms of these complex.

**Key Words:** Inflammation, meloxicam, pain model, platin.

### GİRİŞ

Ağrı, geçmişten günümüze birçok kez farklı

algılarla deneyimlenmiştir. Ağrı keskin sınırları olmayan subjektif değerlendirmelerle, sensöryal, emosyonel, hoş olmayan bir duygu olarak tanımlanır. Ağrı nosiseptif,

**İletişim:** Yrd. Doç. Dr. Selma Yaman. KSÜ Tıp Fakültesi Biyofizik AD, Kahramanmaraş

**Tel** : 0 530 695 22 82

**E-Posta** : korkutansel@hotmail.com

**Geliş Tarihi** : 20.11.2017

**DOI:** 10.17517/ksutfd.356437

**Kabul Tarihi** : 26.12.2017

nöropatik ve psikojenik olabilir (1). Ağrı algısını gidermek üzere birçok ilaç ve yöntem başvurulmaktadır. Non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) ağrı kesici özellikleri ile etkin bir şekilde kullanılmaktadır. NSAİİ'ler analjezik, antipiretik ve anti-inflamatuar etki göstererek semptomatik iyileşme sağlarlar (2, 3). İnflamasyon, dokunun maruz kaldığı yıpratıcı etkenlere karşı gelişen koruyucu özellikte bir cevaptır. Uyarıcı özelliği, meydana gelen doku hasarı ve gelişen cevaba bağlı olarak kronik veya akut olabilir. Hızlı başlayan akut fazkısı süreli olup, tipik olarak kızarıklık, ödem, ağrı, ısı oluşumu ve lökosit cevabla karakterizedir (4). Kronik inflammatuar süreç ise daha uzun süre, makrofaj yanıtla karakterize ve çoğu kez ateroskleroz, obezite, kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra romatoid artrit, kanser gibi ramotolojik ve immünolojik rahatsızlıklarda kendini göstermektedir (5-8).

İnflamatuar uyarıya maruz kalan bir dokuda inflamasyon gelişiminde prostaglandinler öncülük ederler. Prostaglandin üretiminde, siklooksijenaz (COX) izoenzimi araşidonik asit üzerinden önemli bir role sahiptir (9, 10). NSAİİ'ler inflamasyon sürecinde antiinflammatuar etkisini siklooksijenaz enzimi (COX) inhibisyonunu göstererek sağlamaktadır (11). Prostaglandinlerin (PG) sentez kontrolörü olan COX, COX-1 ve COX-2 olarak iki forma sahiptir (12). Meloksikam, inflamasyon cevabının en önemli bileşenlerinden biri olan COX-2 için selektif ajan olup COX-2 inhibisyonunu sağlar ve COX-1 için de nonselektif baskılayıcı gerçekleştirir (13-15). Günümüzde zorlu hale gelen hastalıklarla mücadelede, geliştirilen farmakolojik ajanların yanı sıra metal kompleks uygulamalarına da başvurulmaktadır. Platin, bakır gibi elementler metabolik ve immün hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar ile birliktelikleri etkin sonuçlar doğurmaktadır (16). Kanser tedavisinde platin etkinliği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (17).

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmalarımızda, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi tarafından üretilen ve Wistar türü 30 adet olgun dişi (10-12 aylık) sıçan kullanıldı. Su ve yiyecek kısıtlaması olmaksızın sıçanların standart kafeslerde serbestçe beslenmesi sağlandı, gece-gündüz ritmi, ortam 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılarak sağlandı ve ortam sıcaklığı 22-25°C, rölatif nemi % 40-60 olacak şekilde tutuldu. Bütün deneyler, 22-24°C oda sıcaklığında, sessiz ortamda, gerçekleştirildi. Deney başlanmasından bir hafta önce, deneyin yapıldığı ortama getirilerek sıçanların ortama alışması sağlandı. Aynı şekilde, deney düzeneklerine alışmalarını sağlamak için, sıçanlar deney yapılmadan önce üç defa en az 30 dakika test cihazlarında herhangi bir uygulama yapılmadan bekletildi. Çalışmalar, IASP (International Association for the Study of Pain) ve yerel deney hayvanları kullanımı ve bakımı komitesi tarafından onaylanan kurallara uygun olarak yürütüldü.

İnflamatuar ağrı modelinin oluşturulması sıçanlarda inflammatuar ağrı Carrageenan (CAR) kullanılarak gerçekleştirildi. CAR-inflamatuar ağrı modeli serum fizyolojik içerisinde çözülürken CAR'ın (2 mg/100 µl) intraplantar olarak sıçanların sağ ayak

tabanlarına uygulanması ile oluşturuldu. Doz çalışmaları için gruplar Grup I: 0,5 mg MLX (n=6), Grup II: 0,5 mg MLX+Pt (n=6), Grup III: 0,25 mg MLX (n=6), Grup IV: 0,25 mg MLX+Pt (n=6), Grup V: Salin (n=6) şeklinde oluşturuldu.

## Testler

Sağlıklı ve inflammatuar ağrılı (Carrageenan (CAR) kullanılarak) sıçanların duysal fonksiyonları termal plantar test (hiperaljezi için), dinamik plantaraesthesiometer (allodini için) kullanılarak intraplantar olarak uygulanan ilaçların anti-hipernosiseptif etkileri, pençe kütleleri ölçülerek de anti-ödem etkileri değerlendirildi.

**Mekanik plantar test:** Sıçanın pençesine yapılacak dokunmaya karşı duyarlılığının belirlenmesi için yapılır. Bu sistemde sıçanlar gözenekli temiz metal bir zemin üzerinde tutuldu ve paslanmaz çelikten 0,5 mm kalınlığındaki filament ile kuvvet uygulandı. Uygulanan bu mekanik kuvvet sağlıklı sıçanlarda herhangi bir ağrılı durum oluşturmamakta, dokunma duyusuna neden olmaktadır. Sıçan pençesini mekanik uyarandan çektiğinde, uyarım otomatik olarak durdu ve kuvvet kaydedildi (Şekil 1.A).

**Termal plantar test:** Bu test tekniğinde, radyan sıcaklık kaynağından gelen termal bir uyarı sonrasında sıçanın pençesini geri çekme latansı ölçülmektedir. Bir kısıtlama olmaksızın, serbestçe hareket edebilen sıçanların arka pençelerine deride herhangi bir hasar meydana gelmeden bir ağrı hissi oluşur. Bu ağrı hissine karşılık hayvanın vereceği refleks yanıtı (pençesini uyarandan geri çekme) kadar geçen süre (termal latans) ölçülerek değerlendirilir (Şekil 1.B).

## Ödem aktivitesinin değerlendirilmesi:

Sıçanların pençesine uygulanan CAR sonrası ödem meydana gelmektedir. Sıçanın pençesinin (bileğinden kesilerek) kütlesi ölçülerek meydana gelen değişimden, araştırılan ajanların anti-ödem etkileri ile ilgili veriler elde edildi.

Meloksikamın Platin metal bazlı bileşiğinin sentezi:

2 mmol (0.703 g) Meloksikam ( $H_2MLX$ ) alındı. 100 mL sıcak etanolde çözüldü. 65 °C'ye kadar ısıtıldı. Üzerine 1 mmol (0.230 g)  $K_2PtCl_4$  10 mL saf sudaki çözeltisi damla damla ilave edildi. 24 saat süre ile reflüks edildi. Çöken ürün süzülerek alındı. Sıcak etanol ve hekzan ile yıkandı ve vakumlu etüvde kurutuldu.

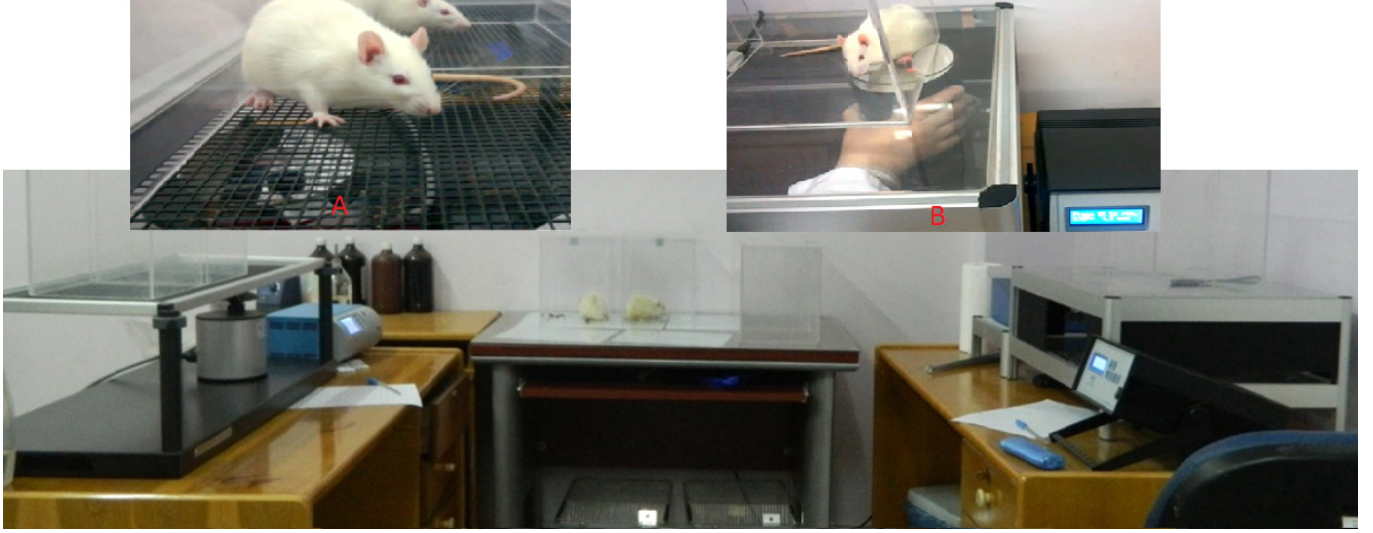
## İstatistiksel Değerlendirme:

Verilerin istatistiksel analizlerinde; bir değişkenli ve çoklu grupların analizleri için one way ANOVA, iki değişkenli ve çoklu grupların karşılaştırılmasında two way ANOVA, repeated measures of ANOVA ve post-Hoc testleri kullanıldı.

## BULGULAR

İnflamasyonlu ve sağlıklı gruplarda termal ve mekanik plantar testlerde, MLX, MLX+Platin, salin

Şekil 1. Mekanik plantar test (A), termal plantar test (B) sistemleri



grupları arasında farklılıklara bakıldı.

### Sağlıklı Grup:

Termal plantar testte MLX ve MLX+Pt termal latansı doza ve zaman bağlı olarak uzatmaktadır. Bununla birlikte MLX+Pt kompleksi daha etkili bir şekilde ağrılı termal uyarın iletimini engellemektedir.

Mekanik testlerde, Pt kompleksinin MLX'den istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmektedir. MLX ve MLX+Pt mekanik eşik değerini doza ve zaman bağlı olarak uzatmaktadır. Bununla birlikte ağrısız mekanik uyarın sonrasında MLX ve MLX+Pt kompleksi hemen hemen aynı oranda dokusal bilgi iletimini engellemektedir (Şekil 2).

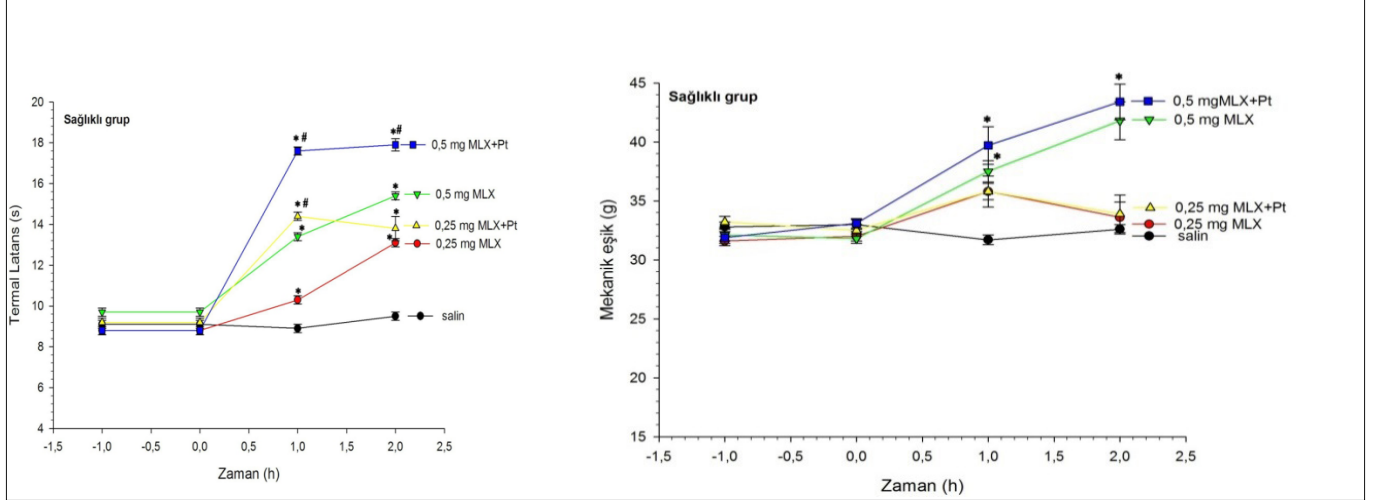
sonra eşik değeri anlamlı düzeyde azaldı bu allodini göstergesidir. CAR dan 1 saat sonra yapılan salin enjeksiyonunda eşik değerinde anlamlı değişim gözlenmedi.

MLX ve MLX+Pt termal latansı doza ve zaman bağlı olarak uzattı ve allodini oluşumunu engelledi. Bununla birlikte inflamasyonlu grupta MLX+Pt kompleksi uygulamadan 1 saat sonra alınan ölçümde daha etkili bir şekilde allodini oluşumunu engellerken bu etkinin zamanla azalması dikkat çekiciydi (Şekil 3).

### Ödem aktivitesinin değerlendirilmesi:

Sensor testlerin ardından alınan pençelerin kütleleri ölçülerek sağlıklı ve inflamasyonlu pençelerin

Şekil 2. MLX ve MLX+Pt kompleksinin termal hiperaljezi ve mekanik allodini üzerine etkisi (Sağlıklı grup).



### İnflamasyon gelişen grup:

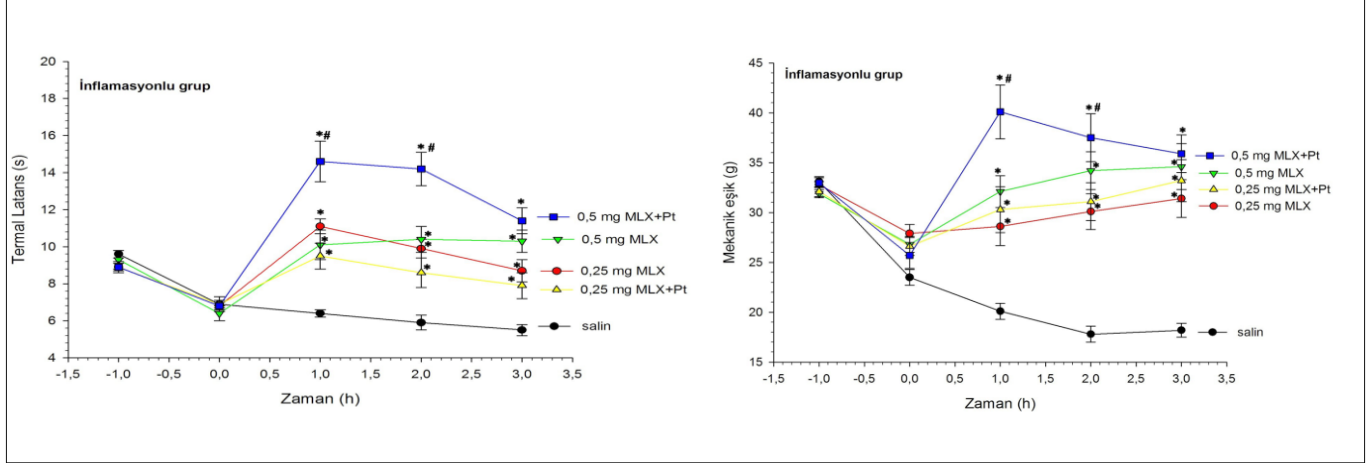
Termal plantar testte CAR enjeksiyonundan sonra latans anlamlı düzeyde azaldı bu hiperaljezinin göstergesidir. CAR uygulamasından 1 saat sonra yapılan salin enjeksiyonunda latansda anlamlı değişim gözlenmedi. MLX ve MLX+Pt termal latansı doza ve zaman bağlı olarak uzattı ve hiperaljezi oluşumunu engelledi.

Mekanik plantar testte CAR enjeksiyonundan

kütle farkları alınarak etkiler karşılaştırıldı. CAR uygulamasının pençe kütlelerini anlamlı olarak artırması ödem oluşumunu göstermektedir. Salin uygulaması herhangi bir değişime neden olmazken, özellikle MLX+Pt komplekslerinin çok daha etkili bir şekilde pençe kütlelerini sağlıklı gruba yaklaşmasına neden oldu (Şekil 4).

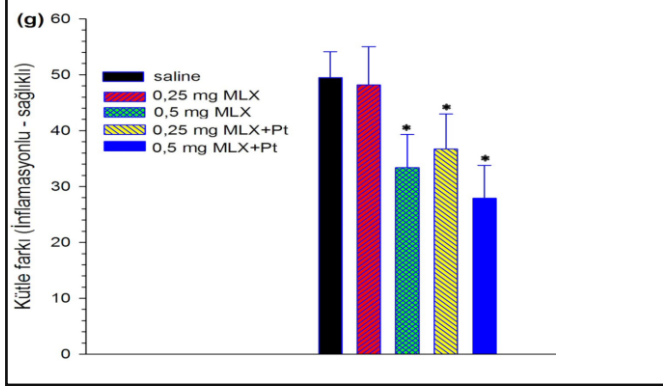
### TARTIŞMA

Şekil 3. MLX ve MLX+Pt kompleksinin termal hiperaljezi ve mekanik allodini üzerine etkisi (İnflamasyonlu grup).



İnflamasyon meydana getiren CAR uygulamasında sıçanların pençesinde zamana bağlı olarak gelişen hiperaljezi, allodini ve ödem gibi inflamatuvar yanıtları istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) idi. MLX ve MLX+Pt kompleksi ortaya çıkan hipernosiseptif etkileri zamana ve doza bağlı olarak baskıladı ( $p < 0.05$ ). İnflamasyonlu grupta eşik ve latans değerlerindeki uzatıcı etkiler çok daha fazlaydı. Pt kompleksi MLX'e göre daha etkili anti-nosiseptif ve anti-hipernosiseptif etkiler meydana getirdi. Benzer şekilde pençe kütleindeki artış MLX+Pt tarafından daha fazla baskılandı.

Şekil 4. Pençelere uygulanan CAR sonrası inflamasyonlu pençelerin kütle ölçümü ile ajanların anti ödem aktivitesinin değerlendirilmesi.



Çalışmanın amacına uygun olarak inflamasyon süreçlerinde MLX+Pt kompleksi güçlü bir anti inflamatuvar özellik göstermektedir. Yapılması planlanan ayrıntılı çalışmalar ile elde edilen metal kompleksinin farklı uygulama yaklaşımları ve etki mekanizması hakkında ayrıntılı verilere ulaşılması hedeflenmektedir.

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Aslan FE. Ağrı doğası ve kontrolü. Bilim yayınları 42; Avrupa kitapçılık 2006.
2. Brooks PM, Klippel JH, Dieppe PA. Textbook of Rheumatology, 2th ed. London: Harcourt Publisher Ltd 2000; 3: 1-6.
3. Ardoin SP, Sundy JS. Update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Curr Opin Rheumatol 2006;18: 221-26.
4. CHIU YJ. Analgesic and anti inflammatory activities of the aqueou sextract from Plectranthusamboinicus (Lour.) Spreng. both in vitro and in vivo. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2012, 2012.
5. Hotamisligil GS. Endoplasmicreticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. Cell 2010;140: 900-917.
6. Frostegard J. Rheumatic diseases: insights into inflammation and ather osclerosis, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 2010; 30: 892-893.
7. Mathieu P, Lemieux I, Despres JP. Obesity, inflammation, and cardiovascular risk. Clinical Pharmacology and Therapeutics 2010; 87: 407-416.
8. Metsios GS, Sandoo A. Vascular function and inflammation in rheumatoid arthritis: the role of physical activity. Open Cardiovascular Medicine Journal 2010; 4: 89-96.
9. Canbolat E. Araşidonik asit metabolitlerinin oluşum mekanizması ve bazı hastalıklardaki rolü. Electronic Journal of Vocational Colleges 2015;5: 20-29.
10. Afsar A. An overview of inflammation: mechanism and consequences. Frontiers in Biology 2011; 6,4: 274-281.
11. Cao Y, Prescott SM. Many actions of

- cyclooxygenase-2 in cellular Dynamics and in cancer. *J Cell Physiol* 2002; 190: 279-286.
12. Williams CS, Mann M, DuBois RN. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene* 1991; 8: 7908-7916.
  13. Kumar A, Kumari B, Kumar P. Protective effects of selective and non-selective cyclooxygenase inhibitors in an animal model of chronic stress. *Neurosci Bull* 2010, 26: 17-27.
  14. Solomon DH, Furst DE. Overview of selective COX-2 inhibitors. CD-ROM.17.2: 2009.
  15. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier JP. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis* 2003;62: 501-9.
  16. Muslu H, Golcu A. New metal based drug as a therapeutic agent: Spectral, electrochemical, DNA-binding, surface morphology and photoluminescence properties. *Journal of Molecular Structure* 1092 2015; 22-33.
  17. Cetinkaya, B. Kavramlar ve Anorganik Kimya, İnönü Üniversitesi Basımevi, 1993.305: 366-367.