

Antienflamatuvar Etkinliğin Ölçülmesinde Kullanılan Yöntemler

Hanefi Özbek, Abdurrahman Öztürk

Özet;

İlaç araştırmalarının günümüz sağlık sektöründeki yeri ve önemi açıktır. İlaç araştırmalarının bir parçası olan deney hayvanları ve bunlara uygulanan testler günümüze kadar önemli aşamalar kaydetmiştir. Tedavide önemli bir yeri olan antienflamatuvar ilaçların deney hayvanları üzerinde araştırılması ve kullanılan yöntemler deneysel farmakolojinin güncel konuları arasındadır. Bu makalede antienflamatuvar aktivitenin ölçümü için kullanılan araç-gereç ve yöntemler hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antienflamatuvar aktivite testi, sıçan, fare, pletismografi.

Antienflamatuvar (antiflojistik) ilaçlar sağlık alanında yaygın bir kullanıma sahiptirler. Antienflamatuvar etkinliği, en güçlü olarak antienflamatuvar glukokortikoidler (steroid yapılı ilaçlar) gösterir. Bunun dışında non-steroidal antienflamatuvar ilaçlar da (NSAİİ) çeşitli derecelerde antienflamatuvar etki potensine sahiptirler ve glukokortikoidlere göre daha az yan etkileri vardır. NSAİİ'lerin analjezik etkileri de vardır fakat opioid analjeziklerden daha düşük derecelidir ve bağımlılık yapmazlar. NSAİİ'lerin bir kısmı aynı zamanda antipiretik etkiye sahiptir (1,2). Günümüzde antienflamatuvar ilaç denilince; yan etkilerinin diğer ilaçlardan daha az olması, aynı zamanda analjezik ve antipiretik etkilerinin de bulunması nedeniyle NSAİİ'ler akla gelmekte ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

NSAİİ'lerin antienflamatuvar etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Bunun nedeni; inflamasyonun erken (vasküler dönem) ve geç (hücrel dönem) olarak oluşun ve düzenli bir sıraya göre gelişen çok çeşitli olaylardan meydana gelmesi ve bu olaylar sırasında çok sayıda mediyatör veya modülatör endojen maddelerin salıverilmesidir. NSAİİ'lerin antienflamatuvar etkileri ile ilgili olarak öne sürülen başlıca mekanizmalar aşağıdadır (1):

- İltihap oluşumunda prostaglandin hipotezi ve buna göre antienflamatuvar etkinin açıklanması; Siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonu.

- NSAİİ'lerin antienflamatuvar etkisine siklooksijenaz inhibisyonu dışındaki olayların katkısı.

Enflamasyonun inhibisyonunda klasik NSAİİ'lerin baskıladığı başlıca yol COX enzim inhibisyonudur.

Günümüzde antienflamatuvar etkinliği bilinen pekçok madde ilaç olarak pazarlanmıştır. Bunun yanında yan etkileri daha az, antienflamatuvar etkinliği daha güçlü antienflamatuvar ilaç araştırmaları da sürmektedir. Bu tür araştırmaların bir basamağı olan deneysel araştırmalarda kullanılan yöntemler, bu yazının konusunu oluşturmaktadır.

Antienflamatuvar Aktivite Ölçümünün

Mantığı: Antienflamatuvar aktivitenin varlığını ve gücünü ölçmek için günümüze kadar birçok test geliştirilmiştir. Antienflamatuvar aktivite testleri, temelde deney hayvanının arka pençesine, kulak kepçesine, sırt altı derisine, plevra, periton veya mesane içerisine enflamasyon oluşturunca bir ajan vererek o bölgede inflamasyon oluşmasını sağlamak ve oluşan bu inflamasyonun antiinflamatuvar etkinliği olduğu varsayılan madde tarafından geriletilip geriletilemediğine, inflamasyon geriletilebiliyor ise bunun bilinen bir antienflamatuvar ajanla kıyaslanması suretiyle gücüne (potensine) bakılması esasına dayanır.

Kullanılan Deney Hayvanları: Antienflamatuvar aktivite ölçümlerinde deney hayvanının pençesi kullanılacak ise bu amaçla genellikle sıçanlardan (rat) faydalanılır. Sıçan cinsi olarak çoğunlukla Sprague-dawley rat (3,4), Wistar rat (5,6), Holtzman rat (7) ve NMRI rat (8) gibi sıçan cinsleri tercih edilmekte, bunlar içerisinde ilk ikisi daha çok kullanılmaktadır. Pençe ödemeine dayalı çalışmalarda nadiren fareler de (mice) kullanılmaktadırlar (9). Özellikle pençe ödemi ve

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

Yazışma Adresi: Yrd.Doç.Dr. Hanefi ÖZBEK

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi

Farmakoloji Anabilim Dalı

Maraş Caddesi Araştırma Hastanesi

65300 VAN

kulak kepçesi ödemi çalışılacaksa, deney hayvanına ait vücut sıvı dengesinin deneyi etkilememesi amacıyla, hayvanlar bir gün önceden aç ve susuz bırakılıp deneyden 20 ve 4 saat önce toplam iki kez ağızdan su verilmesi (1.5 ml/100 gram vücut ağırlığı) şeklinde uygulamalar (10) yapılmaktadır. Sıçan ve fare gibi deney hayvanlarının yaklaşık 24 saat aç bırakılması etik açıdan bir sorun oluşturmamaktadır.

Antienflamatuvar aktivite ölçümü için deney hayvanının kulak kepçesi kullanılacaksa; genellikle fareler (Swiss albino mice) tercih edilmektedir (10,11). Deney hayvanının sırtı (sırtta cotton-pellet yerleştirilerek ödem oluşturma yöntemi) kullanılacaksa; bu durumda Wistar rats (12) veya Holtzman rats (13) kullanılmaktadır. Deney hayvanının plevrasında (14), periton içerisinde (12) veya mesanesinde (15) ödem oluşturulacaksa yine bunlar için de sıçanlar kullanılmaktadır.

Antienflamatuvar aktivite testleri için, kolayca temin edilebilmeleri sebebiyle, Wistar veya Sprague-dawley cinsi sıçanlar ile Swiss albino cinsi fareler en çok kullanılan deney hayvanlarıdır.

Deney Hayvanının Cinsiyeti: Yapılan çalışmalarda genellikle erkek cinsiyetteki deney hayvanlarının tercih edildiği görülmektedir. Dişi cinsiyetteki deney hayvanlarının hormonal yönden erkek cinsiyete göre daha fazla değişiklik göstermesi, erkek cinsiyetteki deney hayvanlarının tercih edilmesine neden olmaktadır. Deneysel çalışmalarda, eğer cinsiyetle ilgili zorunluluk gerektiren bir durum yoksa, çalışma gruplarının dişi ve erkek eşit sayıda hayvanlardan oluşturulması en uygun seçim olacaktır.

İnflamasyon Yapıcı Ajanlar: Deney hayvanlarında enflamasyon oluşturmak amacıyla aşağıda sıralanan birçok inflamatuvar ajan kullanılmış olup, bunlardan birçoğu (egg albumin gibi) terkedilirken bazıları da hemen her çalışmanın baş inflamatuvar ajanı haline gelmiştir (lambda-carrageenan gibi). enflamasyon oluşturmak amacıyla kullanılan ajanların birçoğu şunlardır; lambda-carrageenan (7), bradikinin, serotonin (3), histamin, dekstran, formaldehit (4,8), araşidonik asit (5,11), ksilen, asetik asit (16), Freund adjuvanı (öldürülmüş *Mycobacterium butyricum* süspansiyonu) (17), kroton oil (15), prostaglandin E₁ (18), Brewer's yeast (maya) solüsyonu, egg albumin (7), cotton-pellet (12,13), 12-O-tetradecanoylphorbol acetate (TPA) (11), phorbol myristate acetate (PMA) (10) ve siklofosamid (15).

Yukarıda sayılan inflamatuvar ajanlar içerisinde en çok lambda-carrageenan

(*chondrus*'dan elde edilen bir ekstredir) kullanılmakta olup bunun da genellikle % 1'lik solüsyonu (serum fizyolojik veya distile su içerisinde hazırlanmakta) 0.05 ml hacimde sıçanların sağ arka pençesine subplantar yoldan uygulanmaktadır. Vücut ağırlığına bakılmaksızın her bir sıçana aynı miktarda carrageenan solüsyonu verilir.

% 1'lik Carrageenan Solüsyonunun Hazırlanması: Etraflı bir çalışma için % 1'lik carrageenan solüsyonunun yaklaşık 10 ml'si yeterli olur. 10 ml distile su veya serum fizyolojik içerisine 100 mg lambda-carrageenan eklenerek % 1'lik carrageenan solüsyonu elde edilir. Elde edilen solüsyon yaklaşık 200 sıçanın arka pençesine yetecek miktardadır. Hafif çalkalama ile carrageenan'ın su içerisinde kolayca çözöldüğü görülecektir. Elde edilen solüsyon hafif jölemsi kıvamda olmalıdır. Çalışma sırasında solüsyonun kaza ile araştırmacıların el, parmak gibi uzuvlarına enjekte edilmesi durumunda bu bölgelerde enflamasyon yapması dışında bir zararı yoktur.

Antienflamatuvar Aktivite Testleri: Akut ve kronik enflamasyon testleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır:

Akut enflamasyon Testleri:

- **Sıçanlarda carrageenan'le oluşturulmuş pençe ödemi:** En çok kullanılan ve tercih edilen testtir (3-9, 19). Genellikle lambda-carrageenan kullanılır. Buna karşılık histamin, dekstran, serotonin, formaldehit gibi ajanlar da kullanılmaktadır (4,8).
- **Farelerde araşidonik asit, PMA gibi ajanlarla oluşturulmuş kulak kepçesi ödemi:** İkinci sıklıkta kullanılan bir testtir (5,10,11). Araşidonik asit, PMA, TPA gibi inflamatuvar ajanlarla kulak kepçesinde enflamasyon oluşturma esasına dayanır.
- **Farelerde peritoneal damar permeabilite artışı testi:** Antienflamatuvar etkinliği olduğu varsayılan madde tarafından enflamasyona bağlı damar permeabilitesi artışının ve enflamasyonlu bölgeye makrofaj göçünün ne derecede inhibe edildiğini araştırmaya yönelik bir testtir. Bu amaçla Evans blue boyası intra venöz yolla deney hayvanına uygulanır. Bu boyanın damarlardan periton sıvısı içerisine geçme derecesi spektrofotometre aracılığıyla ölçülür. Ayrıca bu bölgeden alınan sıvı örneklerindeki makrofajlar sayılarak makrofaj göçü hakkında veri elde edilir (12,17,18).
- **Sıçanlarda carrageenan'le oluşturulmuş plörezi testi:** Sıçanlara 3.-5. interkostal aralıktan carrageenan solüsyonu enjekte

edilerek burada enflamasyon oluşturulması ve bu inflamasyon sonucu intraplevral aralığa göçen yangı hücrelerinin çalışma sonrası alınan plevral sıvıda sayılması esasına dayanır (14).

- **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 (15).
- **Kabak testi:** Az kullanılan bir testtir. Anestezi altında sıçanların böbrek üstü bezleri iki taraflı olarak çıkarılır (bilateral sürrenalektomi). Operasyondan 18 gün sonra sıçanlarda inflamasyon yapıcı bir ajanla pençe ödemi oluşturma yöntemi kullanılarak antiinflamatuvar etkinlik ölçülür (4,19). Bu test farelerde de yapılabilmektedir. Bu durumda bilateral sürrenalektomiden dört gün sonra fareler antienflamatuvar etki çalışması için kullanılabilir duruma gelmektedirler (18). Operasyonu takiben deney hayvanlarına çeşme suyu yerine % 1'lik NaCl içeren su verilmelidir. Bu yöntemdeki tek fark böbrek üstü bezinin yokluğunda yani sürrenal korteks hormonlarının etkisinin pratik olarak yok sayıldığı bir vücut ortamında, antiinflamatuvar etki ölçüm testlerinin uygulanmasını sağlıyor olmasıdır.

Kronik Enflamasyon Testi:

- **Cotton-pellet aracılığıyla granülom oluşturulması testi:** Kronik enflamasyon için sık kullanılan ve tercih edilen bir testtir (13,20). Deney, yaklaşık sekiz gün sürmektedir. Sterilize edilmiş cotton-pellet, deney hayvanının interscapular bölgesi deri altı dokusuna yerleştirilerek bir hafta sonra dikkatle çıkarılır ve cotton-pellet ile etrafında oluşmuş granülom dokusu birlikte 70-100 °C'de kurutulup tartılır. Tüm çalışma gruplarında cotton-pelletlerin ağırlıkları karşılaştırılarak değerlendirme yapılır.

Antienflamatuvar Etkinin Ölçümü ve Kullanılan Cihazlar:

- **Pençe volümünün ölçülmesi:**
 - o Statham basınç transdüseri ile ölçüm (7): 1960'lı yıllarda kullanılan bir yöntemdir. Sıçan pençesi, lateral malleolusun üzerinden mürekkeple işaretlenip, civa içerisine tamamen daldırılır. Civa 60 mm derinlikte, 25 mm çaptaki bir cam silindirde bulundurulur. Civa sütunu Statham basınç transdüserine bağlıdır. Transdüser çıkışı bir galvanometre aracılığıyla volüm

değişikliğini gösterir. Bir cismin cıvaya daldırılmasıyla meydana gelen 1 ml'lik volüm değişikliği transdüserde 35 birimlik oynama yapar. Metot tekrarlanabilir ve çok süratlidir. Sıçanı bir kişi tutarken diğer bir kişi transdüseri tutar, 50 hayvana ait pençelerin ölçümü 10 dakikada yapılabilmektedir.

- o Pletismometre (pletismograf) aracılığıyla ölçüm (17): Pletismometreler, günümüzde özellikle pençe volümünü ölçmek amacıyla kullanılan en modern cihazlardır ve Ugo Basile markalı pletismometreler oldukça yaygın kullanılmaktadır. Bu cihazlarla yapılan ölçümlerde % 4'lük hata olasılığı ihmal edilebilir olarak değerlendirilmektedir. Deney hayvanının sağ arka pençesi antiinflamatuvar etkinlik için, sol arka pençesi ise kontrol amacıyla ölçülür.
- o Pençe ağırlığının ölçülmesi yöntemi (21): Çalışma sonrası deney hayvanı sakrifiye edilip her iki arka patisi lateral malleolün üzerinden kesilerek alınır ve tartılır. Sağ arka pençe antienflamatuvar etkinin çalışılması, sol arka pençe ise kontrol amacıyla kullanılır. Etik yönden soru işaretleri taşıyan bir yöntemdir. Çünkü pençe volümünün pletismometre ile ölçümü son derece hassas bir şekilde yapılabildiğinden pençelerin kesilip tarılmasının bu yöntemde bir üstünlüğü yoktur. Ayrıca pletismometre ile ölçüm yönteminde yapılan uygulamalar deney hayvanına bir zarar da vermemektedir.
- o Deney tüpü ile pençe volümü ölçümü: Pletismometre cihazının pahalı olması nedeniyle özellikle ekonomik yönden sorunu olan yerlerde kullanılmaktadır. Yayınlanması için gönderilen makalelerde pletismometreye ait marka, model ve üretildiği ülke belirtilmeli iken bazı makalelerde yalnızca "pletismometre ile ölçüm yapıldı" şeklinde ibare ile bu durumun geçiştirildiği dikkati çekmektedir. Bu makalelerde deney tüpü aracılığı ile ölçüm yapıldığı kuvvetle muhtemeldir.

Bu yöntemin pletismometreye göre fazla bir dezavantajı olduğu söylenemez. Çünkü % 4-6 hata olasılığı ile ölçüm yapılabilmektedir. Pletismometre ile % 4'lük bir hata olasılığı normal sayılmaktadır (17). Mümkünse bir pletismometre ile çalışmak en uygunudur. Ama buna olanak yoksa bu durumda kullanılan yöntemin açıkça yazılması da etik olarak yapılması gerekli bir zorunluluktur.

Yöntem kısaca şöyle özetlenebilir: Düz kan almak için kullanılan iki adet biyokimya tüpü çeşme suyu ile silme doldurulur. Suyun yüzey geriliminden dolayı tüpün içindeki su bir miktar tümsek oluşturabilir (tüpün ağzı ile tam olarak aynı hizaya gelmez). Bu suya önceden bir miktar deterjan katılması suyun yüzey gerilimini azaltacağından yüzey gerilimine bağlı hatalı ölçüm yapılması ihtimali azalacaktır. Deney hayvanının sağ arka pençesi, lateral malleolün hemen üzerinden, çıkmayan mürekkepli bir kalemle işaretlenir. Deney hayvanının pençesi tüpün içine işaretli yerine kadar daldırılarak tüpteki suyu taşıması sağlanır. Aynı işlem ikinci tüp için de yapılır. Böylece ölçüm iki kez yapılmış olur. Daha sonra 100'e kadar işaretlenmiş bir insülin enjektörü aracılığı ile bu tüp tekrar su ile doldurulur. Tüp, silme dolduğunda tüpe insülin enjektörü aracılığı ile doldurulmuş suyun hacmi deney hayvanının pençe volümünü verecektir. Hatalı ölçümü en aza indirmek için ikinci tüpe de aynı işlem yapılır. Her iki tüpten elde edilen değerler toplanıp ikiye bölünerek pençe volümü yaklaşık olarak ölçülmüş olur. Bu işlemlerin çalışmanın başından sonuna kadar aynı kişi tarafından yapılması, mümkünse aynı işlemlerin bir kez de aynı zaman dilimi içerisinde farklı bir araştırmacı tarafından gerçekleştirilerek kişisel farklılıkların en aza indirilmesi gerekir.

- **Kulak kepçesi volümünün ölçülmesi:** Kulak kepçesi kalınlığı bir "Oditest calipers" cihazı aracılığı ile 0.01 mm birim uzunlukta ölçülerek yapılır. Çalışma öncesi ve çalışma sonrası sağ ve sol kulak kalınlıkları bu cihazla ölçülerek birbirinden çıkarılır ve oluşan ödem volümü hesaplanır (11).

Standart Antienflamatuvar Ajanlar: Antienflamatuvar etkinliği ölçülen ajanın böyle bir etkinliği tespit edildiğinde, bu etkinliğin antienflamatuvar etkinliği iyi bilinen bir antienflamatuvar ajanla karşılaştırılması gerekir. Bu amaçla kullanılan ve antienflamatuvar etkinliği iyi bilinen ajanlara "standart antienflamatuvar ajanlar" denilir. Bu amaçla kullanılan antiinflamatuvar ajanlardan bazıları şunlardır: İndometazin (pençe ödemi yöntemi için 2.5, 3, 5, 7.5 ve 10 mg/kg, intra peritoneal yolla, kulak kepçesi ödemi için 1 mg/kg kulak kepçesi içerisine uygulanır) (5,17), fenilbutazon (100 mg/kg, per oral) (20), ibuprofen (100 mg/kg, per oral) (6) ve sodyum salisilat (100-300 mg/kg intra peritoneal) (8).

Antienflamatuvar Etkinliğin Ölçümü: Bu amaç için yukarıda sayılan yöntemlerden biri veya birkaçı kullanılabilir. Çalışma deseni için;

- Serum fizyolojik kontrol grubu,

- Standart antienflamatuvar ilaç grubu,
- Antienflamatuvar etkinliği ölçülecek madde grubu

olmak üzere en az üç çalışma grubu oluşturulmalıdır. Ayrıca antienflamatuvar etkinliği ölçülecek maddenin de en az üç farklı dozunun çalışılması, effective dose 50 (ED₅₀) ölçümüne de olanak sağlayacağından, çok daha uygun olacaktır. Elde edilen sonuçların serum fizyolojik kontrol grubu ile karşılaştırılmasıyla maddenin antienflamatuvar etkinliğinin olup olmadığı; eğer böyle bir etkinliği varsa standart antienflamatuvar ajanla karşılaştırılarak bu etkinin gücü ölçülür. En az üç farklı dozun çalışılması ile de çalışılan maddenin antienflamatuvar etkinliğinin ED₅₀'si elde edilmiş olur. Çalışılacak madde, örneğin bir bitkinin ekstresi ise ve hakkında yeterince araştırma, dolayısı ile yeterli bilgi yoksa; çalışılacak dozların belirlenmesinde de yardımcı olacağından, maddeye ait akut toksikolojik çalışmaların önceden yapılması ve bu amaçla probit analizi yöntemiyle lethal doz seviyelerinin (LD₁, LD₁₀, LD₅₀ ve LD₉₀ gibi) hesaplanması (22,23) uygun olacaktır. Deneysel çalışma için ilaç gruplarına verilecek en yüksek ilaç dozunun LD₁ veya hiç olmazsa LD₁₀ seviyelerinin altında tutulması çalışmanın sağlığı açısından gereklidir.

Pençe ödemi yöntemi gözönüne alınacak olursa: Deney hayvanının sağ arka pençesinin volümü ölçüldükten sonra hayvanın pençesine antienflamatuvar ilaç uygulaması yapılır. Antienflamatuvar etkinliği ölçülecek olan ilaç da eş zamanlı olarak hayvana verilir. İlaç uygulamasından üç saat sonra pençe hacmi tekrar ölçülür (antienflamatuvar ilaçlar genellikle üç saat içerisinde maksimum enflamasyonu sağlamaktadır). Çalışmanın başındaki ve üçüncü saatindeki hacimler karşılaştırılarak enflamasyonun ne kadar inhibe edildiği ölçülebilir. Pençe hacmi ölçümleri daha ayrıntılı olarak 2., 3., 4., 6. saatlerde de yapılabilir. Böylece enflamasyonun seyri izlenebilir.

Çalışma gruplarının tümüne ait elde edilen pençe hacmi değişimleri ile ilgili veriler birbirleriyle karşılaştırılarak kontrol grubuna göre bir farklılık meydana gelmiş mi bakılır, eğer anlamlı bir farklılık varsa bunun standart antiinflamatuvar ajana ait değerlerle karşılaştırılması yapılır.

Oluşturulan İnflamasyonun % İnhibisyonunun Hesaplanması: Bu amaçla aşağıdaki formül kullanılabilir (10):

$$\% I = [1 - (d_t / d_c)] \times 100$$

% I: İnhibisyon yüzdesi,

d_i: İlaç uygulanan gruptaki pençe ödemi değişimi,

d_c: Kontrol grubundaki pençe ödemi değişimi.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen veriler “ortalama $\pm$ standart sapma” veya “ortalama $\pm$ standart hata ortalaması” şeklinde ifade edilir. Çalışma gruplarının dağılımına “*One-sample Kolmogorov-Smirnov testi*” ile bakılır. Bu teste göre $p>0.05$ değeri normal dağılımı, $p<0.05$ değeri normal olmayan dağılımı göstermektedir. Çalışma grupları birbirinden bağımsız ve grup sayısı ikiden fazla olduğu için tek yönlü varyans analizi istatistik yöntemi ile gruplar birbirleriyle karşılaştırılır. Çalışma gruplarının dağılımı normal ise varyans analizi için parametrik bir test olan “*ANOVA istatistik yöntemi*”, dağılım normal değilse non-parametrik bir test olan “*Kruskall-Wallis varyans analizi istatistik yöntemi*” kullanılmalıdır. Varyans analizi sonucu $p<0.05$ bulunursa anlamlılığı meydana getiren çalışma grubunu saptamak amacıyla post-hoc testler uygulanmalıdır. Eğer ANOVA uygulanmışsa varyansların homojenitesine bakılarak $p<0.05$ için post-hoc olarak “*Tamhane’s T2 testi*” kullanılır. Varyansların homojenitesi sonucu $p>0.05$ bulunduğunda ise post-hoc olarak kullanılacak çok sayıda test vardır (Bonferroni, Tukey, Least Significant Difference, Sidak, Scheffe, Duncan, Gabriel gibi). Bu testler içerisinde istatistikçiler tarafından en çok “*Tukey’s Honestly Significance Difference Test*” tavsiye edilmektedir. Kruskall-Wallis için post-hoc testler geliştirilmemiştir. Bu amaçla “*Mann-Whitney U testi*” kullanılır (24,25).

The Methods for Measurement of Anti-inflammatory Activity

Abstract:

Drug investigations have a pivotal role in today's health care system. A fundamental part of these efforts, the animal studies and the applied tests have been greatly improved in the past years. Animal experiments with antiinflammatory drugs and the investigational methods are now among popular subjects in experimental pharmacology. In this article, the methods and the instruments used in the measurement of antiinflammatory activity were described.

Key words: Antiinflammatory activity testing, rat, mouse, plethismography.

Kaynaklar

1. Kayaalp SO: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. baskı, Ankara, Hacettepe TAŞ 2002; s: 960.
2. Dökmeci İ: Farmakoloji Temel Kavramlar. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2000; s: 394.
3. Ogonowski AA, May SW, Moore AB et al: Antiinflammatory and analgesic activity of an inhibitor of neuropeptide amidation. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 280: 846-853, 1997.
4. Süleyman H, Demirezer LÖ, Kuruüzüm A et al: Antiinflammatory effect of the aqueous extract from *Rumex patientia* L. roots. J. Ethnopharmacol 65: 141-148, 1999.
5. Rimbau V, Cerdan C, Vila R et al: Antiinflammatory activity of some extracts from plants used in the traditional medicine of North-African countries (II). Phytotherapy Research 13: 128-132, 1999.
6. Vijayakumar CS, Viswanathan S, Reddy MK et al: Anti-inflammatory activity of (+) -usnic acid. Fitoterapia 71: 564-566, 2000.
7. 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 111:544-47, 1962.
8. Ahmadiani A, Javan M, Semnanian S et al : Anti-inflammatory and antipyretic effect of *Trigonella foenum-graceum* leaf extract in the rat: Journal of Ethnopharmacology 75: 283-286, 2001.
9. Çitoğlu G, Tanker M, Gümüşel B: Antiinflammatory effects of Lycorine and Haemanthidine. Phytotherapy Research 12: 205-206, 1998.
10. Kouadio F, Kanko C, Juge Met al: Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the Ivory Coast Pytotherapy Research 14: 635-637, 2000.
11. Carlson RP, Lynn O'Neill-D, Chang J et al: Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. Agents and Actions 17(2): 197-204, 1985.
12. Santos FA, Rao VSN: Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-Cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. Pytotherapy Research 14: 240-244, 2000.
13. Winter CA, Porter CC: Effect of alterations in side chain upon anti-inflammatory and liver glycogen activities of hydrocortisone esters. Journal of The American Pharmaceutical Association 46(9): 515-519, 1957.
14. Lopes-Martins RAB, Pegoraro DH, Woisky R et al: The anti-inflammatory and analgesic effects of a crude extract of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). Phytomedicine 9: 245-248, 2002.
15. Olajide OA, Makinde JM, Okpako DT et al: Studies on the anti-inflammatory and related pharmacological properties of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark. Journal of Ethnopharmacology 71: 153-160, 2000.

16. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M et al: Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine* 9: 135-141, 2002.
17. Lanthers MC, Fleurentin J, Dorfman P et al: Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties of *Euphorbia hirta*. *Planta Medica*. 57: 225-231, 1991.
18. Kasahara Y, Hikino H, Tsurufuji S et al: Antiinflammatory actions of ephedrine in acute inflammations *Planta Medica* 4: 325-331, 1985.
19. Kabak YM. *Praktikum poendokrinologii*. M. Medicina 209, 1945.
20. Narayanan N, Thirugnanasambantham P, Viswanathan S et al: Antipyretic, antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Premna* herbacea roots *Fitoterapia* 71: 147-153, 2000.
21. Dunn JP, Muchowski JM, Nelson PH: Antiinflammatory 5,6-Dihydro-11-oxodibenz[b,e]azepine-3-acetic acids. *J Med Chem* 24: 1097-1099, 1981.
22. Litchfield, JT, and Wilcoxon FWJ: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmac Exp Ther* 96: 99-113, 1949.
23. Abdel-Barry JA, Al-Hakim, MHH, Abdel-Hassan IA Acute intraperitoneal toxicity (LD50) and target organ effects of aqueous extract of *Trigonella foenum-graecum* leaf in the mouse. *Basrah Journal of Science, Section B, Biology* 58: C58-65, 1997.
24. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik, 8. Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi , Sayfa: 67-70, 76-86, 1998.
25. Özdamar K: SPSS ile Biyoistatistik. Dördüncü baskı, Eskişehir, Kaan Kitabevi, 2001.