

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN D VE VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) AGONİSTİ
EB1089’UN AĞRI, MORFİN ANALJEZİSİ VE MORFİN
TOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN SIÇANLARDA
ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL**

**Danışman
Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ**

Doktora Tezi

**Nisan 2021
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**VİTAMİN D VE VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) AGONİSTİ
EB1089’UN AĞRI, MORFİN ANALJEZİSİ VE MORFİN
TOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN SIÇANLARDA
ARAŞTIRILMASI**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL**

**Danışman
Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TDK-2019-8949 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Nisan 2021
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Vitamin D Ve Vitamin D Reseptör (VDR) Agonisti Eb1089’un Ağrı, Morfin Analjezisi Ve Morfin Toleransı Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması” adlı **Doktora Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL

Danışman
Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Nurcan DURSUN

Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ danışmanlığında **Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL** tarafından hazırlanan “**Vitamin D Ve Vitamin D Reseptör (VDR) Agonisti Eb1089’un Ağrı, Morfin Analjezisi Ve Morfin Toleransı Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.... / ... / 2021

JÜRİ

İmza

Danışman : Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD)

Üye : Prof. Dr. Gülen GÜLER (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon ABD)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Kemal Erdem BAŞARAN (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD)

Üye : Prof. Dr. Ercan ÖZDEMİR (Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Derya Deniz KANAN Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım süresince, çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında bana yol gösteren, bilimsel desteğini ve anlayışını esirgemeyen, değerli tez danışmanım Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ'ye,

Doktora ders döneminde danışmanlığımı yürüten bilgi ve tecrübesini paylaşarak her zaman bana yol gösteren Prof. Dr. Sami AYDOĞAN'a,

Doktora eğitimim sürecinde ders aldığım, bilgi ve desteklerini benden esirgemeyen, Anabilim Dalı olanaklarından yararlanmamı sağlayan başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nurcan DURSUN olmak üzere, Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma,

Tezimin istatistiksel analizlerinde yardımını esirgemeyen kuzenim Dr.Nermin KIBRISLIOĞLU UYSAL'a

Doktora çalışmam sürecinde her zaman yanımda olan, beni motive eden ve destekleyen canım eşim Doç. Dr. M. Serdar BAŞÇIL ve kızım Ayşenur'a,

Bugünlere gelmemde emeğini esirgemeyen her zaman desteğini hissettiğim canım babam Hayrettin GÜNDÜZ ve biricik annem Emine GÜNDÜZ'e ve tüm aileme teşekkür ederim.

**“VİTAMİN D VE VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) AGONİSTİ EB1089’UN
AĞRI, MORFİN ANALJEZİSİ VE MORFİN TOLERANSI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN SIÇANLARDA ARAŞTIRILMASI”**

Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi, Nisan 2021

Danışman: Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

ÖZET

Ağrı mevcut ya da olası doku hasarına bağlı gelişen, duysal ve duygusal subjektif bir deneyimdir. Ağrı tedavisinde kullanılan morfin en yaygın ve etkili opioid analjeziklerden birisidir. Morfinin uzun süreli kullanımlarında oluşan morfin toleransı klinik kullanımı zorlaştırmaktadır. Bu çalışmadaki amaç; vitamin D (Vit D)’nin, ağrı, morfin analjezisi ve morfin toleransı üzerine olan etkilerini araştırmaktır. Ayrıca bir vitamin D reseptör agonisti olan EB1089’unda, reseptörün etkilerini artırarak bu mekanizmaya herhangi bir katkısının olup olmadığını göstermektir.

Çalışmamızda 3 aylık ortalama 240-260 gr ağırlığında 96 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlardan 24 adeti etkin dozu saptamak için ön çalışmada, 72 adeti ise doz belirlendikten sonra deney grupları için kullanılmıştır. Sıçanlar her grupta 8 hayvan olmak üzere 9 gruba ayrılmıştır. Gruplar: Kontrol (SF), Morfin (5 mg/kg), Morfin + Vit D (5 mg/kg morfin + 10 µg/kg Vit D), Vit D (10 µg/kg), Morfin + EB1089 (5 mg/kg + 10 µg/kg EB1089), EB1089 (10 µg/kg), Morfin Tolerans (10 mg/kg, 2x1 gün), Morfin Tolerans + Vit D (10 mg/kg, 2x1 gün + 10 µg/kg Vit D), Morfin Tolerans + EB1089 (10 mg/kg, 2x1 gün + 10 µg/kg EB1089) olarak tasarlanmıştır. Tolerans oluşturma sürecinde ilaçlar 5 gün boyunca uygulanmış olup, sonrasında analjezik etkiyi değerlendirmede tail flick ve hot plate testleri kullanılmıştır. Bütün gruplarda yer alan hayvanların öncelikle hiç ilaç uygulamadan önce 0. dakika ölçümleri alınmıştır ve ilaç uygulamalarını takiben 30, 60 ve 90. dakikalardaki ölçümleri kaydedilmiştir. Deney sonunda alınan intrakardiyak kan örneklerinden elde edilen plazmada ELİSA yöntemiyle serotonin düzeyleri incelenmiştir.

Vitamin D ve EB1089, hem hot plate hem de tail flick testinde kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde analjezik etki sağlamıştır ($p<0.05$). Morfinle birlikte verilen vitamin D ve EB1089 ise morfinin analjezik etkisini anlamlı düzeyde arttırmıştır ($p<0.05$). Morfin toleransı oluştururken beraberinde uygulanan vitamin D ve EB1089 morfin tolerans oluşumunu anlamlı düzeyde azaltmıştır ($p<0.05$). Serotonin düzeyleri açısından ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak; çalışmamızda vitamin D ve EB1089 uygulanan hayvanlarda ağrı eşiği artmış, morfinin analjezik etkisi desteklenmiş ve morfine karşı oluşan tolerans ise yavaşlatılmıştır. Morfinin klinikte vitamin D ile birlikte uygulanması tolerans gelişme sürecini yavaşlatarak ilacın daha etkin kullanımını sağlayabilir. Bunun için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Ağrı, morfin toleransı, vitamin D, EB1089

**“INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VITAMIN D AND VITAMIN D
RECEPTOR (VDR) AGONIST EB1089 ON PAIN, MORPHINE ANALGESIA
AND MORPHINE TOLERANCE IN RATS”**

Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL

Erciyes University, Institute of Health Sciences

Department of Physiology

PhD Thesis, April 2021

Supervisor: Prof. Dr. Asuman GÖLGELİ

ABSTRACT

Pain is a sensory and emotional subjective experience that develops due to existing or possible tissue damage. Morphine used in pain relief is one of the most common and effective opioid analgesics. Morphine tolerance, which occurs in long-term use of morphine, makes clinical use difficult. The objective of this study; to investigate the effects of vitamin D (Vit D) on pain, morphine analgesia and morphine tolerance. In addition, to show whether EB1089, which is a vitamin D receptor agonist, has any contribution to this mechanism by increasing the effects of the receptor.

In our study, a number of 96 male, 3 months old, 240 -260 gr Wistar Albino rats were used. 24 of the animals were used in the preliminary study to determine the effective dose and 72 were used for experimental groups after the dose was determined. Rats were divided into 9 groups, 8 animals in each group. Groups are designed as Control (SF), Morphine (5 mg / kg), Morphine + Vit D (5 mg / kg morphine + 10 µg / kg Vit D), Vit D (10 µg / kg), Morphine + EB1089 (5 mg / kg + 10 µg / kg EB1089), EB1089 (10 µg / kg), Morphine Tolerance (10 mg / kg, 2x1 days), Morphine Tolerance + Vit D (10 mg / kg, 2x1 days + 10 µg / kg Vit D), Morphine Tolerance + EB1089 (10 mg / kg, 2x1 days + 10 µg / kg EB1089). In the process of creating tolerance, drugs were applied for 5 days and tail flick and hot plate tests were used to evaluate the analgesic effect. First of all, 0th minute measurements of the animals in all groups were taken before applying any drugs and measurements were recorded in the 30th, 60th and 90th minutes following drug applications. At the end of the experiment, serotonin levels were examined by ELISA method in plasma obtained from intracardiac blood samples.

Vitamin D and EB1089 provided a significant analgesic effect in both hot plate and tail flick tests compared to the control group ($p<0.05$). Vitamins D and EB1089, which are included with morphine, significantly increased the analgesic effect of morphine ($p<0.05$). Morphine tolerance was reduced significantly by using vitamin D and EB1089 ($p<0.05$). There is no meaningful difference between the groups in terms of serotonin levels ($p>0.05$).

As a result; in this study it is proved that the pain threshold was increased, the analgesic effect of morphine, was supported and the tolerance to morphine was slowed down in animals which applied to vitamin D and EB1089. The application of morphine with vitamin D may slow down may tolerance to morphine and enable more effective usage of the drug. It should be supported by further studies.

Keywords: Pain, morphine tolerance, vitamin D, EB1089

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
KISALTMALAR	xiii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. AĞRI.....	4
2.1.1. Ağrının Tanımı.....	4
2.1.2. Ağrının Sınıflandırılması	4
2.1.2.1. Akut Ağrı	5
2.1.2. 2. Nosiseptif Ağrı	5
2.1.3. Nosiseptörler	6
2.1.4. Ağrının Algılanması.....	6
2.1.5. Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi.....	7
2.1.6. Ağrı Yolakları	8
2.1.6.1. Nosiseptif Çıkıcı Yolaklar.....	9
2.1.6.2. Antinosiseptif İnici Yolaklar.....	10
2.1.7. Ağrı Ölçümünde Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri.....	11
2.1.7.1. Termal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	11
2.1.7.2. Mekanik Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	13
2.1.7.3. Kimyasal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri	14
2.2. OPİOİD ANALJEZİKLER	14
2.2.1. Endojen Opioid Peptidler	14
2.2.2. Opioid Reseptörleri	14
2.3. MORFİN	15

2.3.1. Morfinin Farmakokinetiği	16
2.3.2. Morfinin Farmakolojik Etkileri	17
2.3.3. Morfin toleransı.....	17
2.4. VİTAMİN D.....	19
2.4.1. Vitamin D Tanımı ve Tarihçesi.....	19
2.4.2. Vitamin D Sentezi ve Metabolizması	20
2.4.3. Vitamin D Reseptörü ve Etki Mekanizması.....	24
2.4.4. Vitamin D'nin Vücuttaki Sistemler Üzerine Etkileri ve Hastalıklarla İlişkisi	26
2.4.4.1. Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri	26
2.4.4.2. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri.....	27
2.4.4.3. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	27
2.4.4.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri.....	28
2.4.4.5. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri.....	28
2.4.4.6. Kanseri Üzerine Etkileri.....	28
2.4.4.7. Ağrı Üzerine Etkileri.....	28
2.4.4.8. Opioidler Üzerine Etkileri.....	30
2.5. EB1089 (Seokalsitol)	32
2.6. SEROTONİN	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Deney Hayvanları ve Laboratuar Şartları	34
3.2. Çalışma Düzeni	34
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.4. Akut Analjezi Değerlendirmesi	36
3.4.1. Tail Flick Testi.....	36
3.4.2. Hot Plate Testi.....	37
3.5. Morfin Tolerans Oluşturulması ve Oluşan Toleransa Maddelerin Etkisi	38
3.6. Kan Analizleri	38
3.6.1. Serotonin Seviyelerinin Ölçümü.....	39
3.7. İstatistiksel Analizlerin Değerlendirilmesi	40
4.BULGULAR.....	42
4.1. Vitamin D ve EB1089'un Ağrı Üzerine Etkileri	42
4.2. Vitamin D ve EB1089'un Morfin Analjezisi Üzerine Etkileri	43

4.3. Vitamin D ve EB1089'un Morfin Toleransı Üzerine Etkileri	45
4.4. Morfine Tolerans Oluşturulan Grupta Morfinin Etkisi.....	47
4.5. Tekrarlı Ölçümlerde Grupların Kendi İçlerindeki Karşılaştırmaları	48
4.6. Plazma Serotonin Düzeyleri.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	52
6.KAYNAKLAR	60
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	



KISALTMALAR

AC5	: Adenilat siklaz tip 5
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
IASP	: International Association for the Study of Pain
NS	: Nosiseptif spesifik nöron
WDR	: Wide Dynamic Range
VPL	: Ventral posterolateral
GABA	: Gama aminobutirik asit
⁰ C	: Santigrat derece
EOS	: Endojen opioid sistem
GPCR	: G protein bağlı reseptör
μ	: Mü
δ	: Delta
κ	: Kappa
Ach	: Asetilkolin
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
GTP	: Guanozin trifosfat
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
L-NA	: Nitro- L- Arginin
L-NAME	: Nitro- L- Arginin- Metilesterin
VDR	: Vitamin D reseptörü
D3	: Kolekalsiferol
D2	: Ergokalsiferol
UV	: Ultraviyole
DBP	: D vitamini bağlayıcı protein
VDRE	: Vitamin D yanıt elementi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
RXR	: Retinoik asit X reseptörü
PKA	: Protein kinaz A
PLC	: Fosfolipaz C

PI-3	: Fosfoinozitolid-3
MAP	: Mitojen aktive protein
Ca	: Kalsiyum
P	: Fosfor
PTH	: Parathormon
RANKL	: Reseptör aktivator nükleer kappa B
TLR	: Toll-like reseptör
TRPV1	: Geçici reseptör potansiyeli vanilloid 1
NGF	: Sinir büyüme faktörü
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
MTD	: Metadon idame tedavisi
Nmol	: Nanomol
L	: Litre
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
i.p	: İntraperitoneal
HCC	: Hepatosellüler karsinom
5-HT	: 5-Hidroksitriptamin
nPGi	: Nukleus paragigantoselülaris
ml	: Mililitre
kg	: Kilogram
µg	: Mikrogram
ELİSA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
TF	: Tail flick
HP	: Hot plate
ANOVA	: Tek yönlü varyans analizi
IU	: Uluslararası ünite
DRG	: Dorsal kök gangliyonu
TPH2	: Triptofan hidroksilaz 2

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 3.1. Gruplar ve uygulanan maddeler	35
Tablo 4.1. Plazma serotonin düzeyleri	51
Şekil 2.1. Ağrının sınıflandırılması	5
Şekil 2.2. Rexed'in medulla spinalis üzerinde tanımladığı laminaları	8
Şekil 2.3. A-Nosiseptif çıkıcı, B-Antinosiseptif inisiyör ağrı yolları	9
Şekil 2.4. Deney hayvanlarında ağrı eşiğini belirlemede kullanılan tail-flick testi	12
Şekil 2.5. Deney hayvanlarında ağrı eşiğini belirlemede kullanılan hot-plate testi	13
Şekil 2.6. Morfinin kimyasal yapısı (C ₁₇ H ₁₉ NO ₃)	16
Şekil 2.7. Vitamin D halkası	20
Şekil 2.8. Vitamin D metabolizması	23
Şekil 2.9. Vitamin D ve transkripsiyon	25
Şekil 3.1. Tail flick cihazı ve kuyruk çekme testinin uygulanışı	36
Şekil 3.2. Hot plate testinin uygulanışı	37
Şekil 3.3. Sıçanlarda hafif anestezi altında intrakardiyak kan alınması	39
Şekil 3.4. Ölçümlerin değerlendirildiği Elisa plakası	40
Şekil 4.1. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un ağrı üzerine etkileri	42
Şekil 4.2. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un ağrı üzerine etkileri	43
Şekil 4.3. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un morfin analjezisine etkileri	44
Şekil 4.4. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un morfin analjezisine etkileri	45
Şekil 4.5. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un morfin toleransı üzerine etkileri	46
Şekil 4.6. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un morfin toleransı üzerine etkileri	46
Şekil 4.7. Tail flick testinde morfin tolerans grubu ile sadece morfin grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması	47

Şekil 4.8. Hot plate testinde morfin tolerans grubu ile sadece morfin grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması	48
Şekil 4.9. Hot plate testinde grupların kendi içerisinde dakikaya göre değişimleri.....	49
Şekil 4.10. Tail flick testinde grupların kendi içerisinde dakikaya göre değişimleri.....	50



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağrı mevcut ya da potansiyel doku hasarına karşı gelişen hoş gitmeyen duyuşal ve emosyonel kişiyeye özgü bir deneyimdir (Merskey ve Bogduk, 1994). Ağrı hoş bir durum olmamakla birlikte vücudu olası tehlikelere karşı koruyan ve sinyaller üreten bir süreçtir. Nositseptörler denilen özel reseptörler tarafından doku hasarının algılanıp, merkezi sinir sistemine iletilmesi ve burada belirli nöral yapılarda bütünleştirilerek bu zararlı tehdit durumunun algılanması ve bu duruma uygun biyolojik, fizyolojik, ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine ise “nositsepsiyon” adı verilir (Raja ve ark, 1999).

Morfin akut ve kronik ağrı tedavisinde yaygın olarak kullanılan opioid analjeziklerdendir. Morfin analjezik etkisini ağrı duyusunu taşıyan nitiseptif primer afferent nöronların presinaptik uçlarında yerleşmiş olan opioid reseptörlerine bağlanarak, endojen opioid peptidleri taklit etmek suretiyle gerçekleştirir (Lipp, 1991).

Morfinin uzun süre tekrarlı kullanımlarında analjezik etkisinde azalma meydana gelmesiyle tolerans oluşur. Aynı terapötik etkiyi sağlamak için doz miktarının da artırılması gerekir. Opioidlerin analjezik etkisine tolerans gelişmesi kronik ağrının tedavisinde klinik kullanımı zorlaştırır (Mayer ve ark., 1995; Alboghobeish ve ark, 2019). Ayrıca dozdaki artış morfinin yan etkilerinde de artmalara yol açabilmektedir.

Vitamin D, vücutta temel olarak kemik metabolizmasında, kalsiyum ve fosfor homeostazisinin sağlanmasında sorumlu vitamin olarak bilinir (Reid ve ark., 2014). Aslında, vitamin olmasının yanı sıra vitamin D, derinin güneş ışığı ile teması sonucu ciltte üretilen, yağda çözünen, secosteroid yapıda bir prohormondur (Özçelik ve ark., 2012).

Son yıllarda vitamin D ve ağrı ilişkisine yönelik çok sayıda çalışmalar yapılmıştır ve vitamin D eksikliği baş ağrısı, karın, diz ve sırt ağrısı, kalıcı kas-iskelet ağrısı, kostokondrit göğüs ağrısı ve fibromiyalji ile ilişkilendirilmiştir (Plotnikoff ve Quigley,

2003; Lotfi ve ark., 2007; Saps ve ark., 2008, Mistikostas ve ark., 1996; Zeng ve ark., 2004; Glerup ve ark., 2004; Arvold, 2009; Oh ve Johnson, 2012; Waikakul, 2012). Araştırmalar, vitamin D' nin kronik ağrı gelişimi ve modülasyonuna karşı koruyucu olduğu düşünülen çeşitli hücrel aktivitelere hayati bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Vitamin D'nin nöroaktif bir steroid görevi gördüğü, nörotrofinlerin oluşumuna ve rolüne müdahale ettiği, prostaglandin hareketini ve enflamatuvar yolları etkilediği, nitrik oksit sentaz ve yardımcı T hücrelerini inhibe ettiği bulunmuştur (Shipton ve Shipton, 2015; Rosen ve ark., 2012).

Vitamin D' nin morfin toleransı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar ne yazık ki oldukça sınırlı sayıdadır. Vitamin D'den eksik diyet, opioidin analjezik etkisini azaltırken, kolekalsiferol uygulamasından sonra morfinin analjezik etkisi artmıştır (Bazzani ve ark., 1984). Bununla birlikte, bu takviyenin, G protein alt birimlerinin (G α) transkripsiyon seviyelerini ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarının (Cav2) alt birimleri gibi efektörleri ve adenilat siklaz tip 5 (AC5) enzimlerinin yanı sıra opioid sinyal reseptörlerinde yer alan diğer birçok geni de düzensizleştirdiği gösterilmiştir. AC5 geninin aşağı regülasyonunu indüklemesi ile siklik adenozin monofosfat (cAMP) yolu üzerinden opioidlerin analjezik etkileri üzerinde D vitamininin potansiyel bir etki sağlayabileceği gösterilmiştir (Poisbeau ve ark., 2009).

EB 1089 (seokalsitol), hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe etmede kalsitriolden 50-200 kat daha güçlü sentetik bir vitamin D analogudur, ancak kalsitriole göre azalmış kalsemik aktivite gösterir (Hansen ve ark., 2000).

Yapılan literatür taramasında EB1089'un ağrı, morfin analjezisi ya da morfin toleransı ile ilişkilendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır.

EB 1089 ile yapılan çalışmaların büyük bir kısmında çeşitli kanser türlerinde tümör büyümesi üzerine etkisi araştırılmıştır. EB1089'un meme kanseri modelleri (Flanagan ve ark., 2003; Sundaram ve ark., 2003), baş ve boyun skuamöz kanserleri (Prudencio, 2001), yumurtalık kanseri (Kasiappan ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2005), pankreas kanseri (Li ve ark., 2015) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi olgularda tümör büyümesini bloke ettiği bulunmuştur.

Bu çalışmanın amacı; Vitamin D'nin, ağrı, morfin analjezisi ve morfin toleransı üzerine olan etkilerini analjezi testleri ve kan analizleri ile araştırmaktır. Ayrıca bir vitamin D reseptör agonisti olan EB1089'un, reseptörün etkilerini arttırarak bu mekanizmaya katkı sağlayıp sağlamadığının araştırılmasında çalışmanın hedeflerindendir.



2. GENEL BİLGİLER

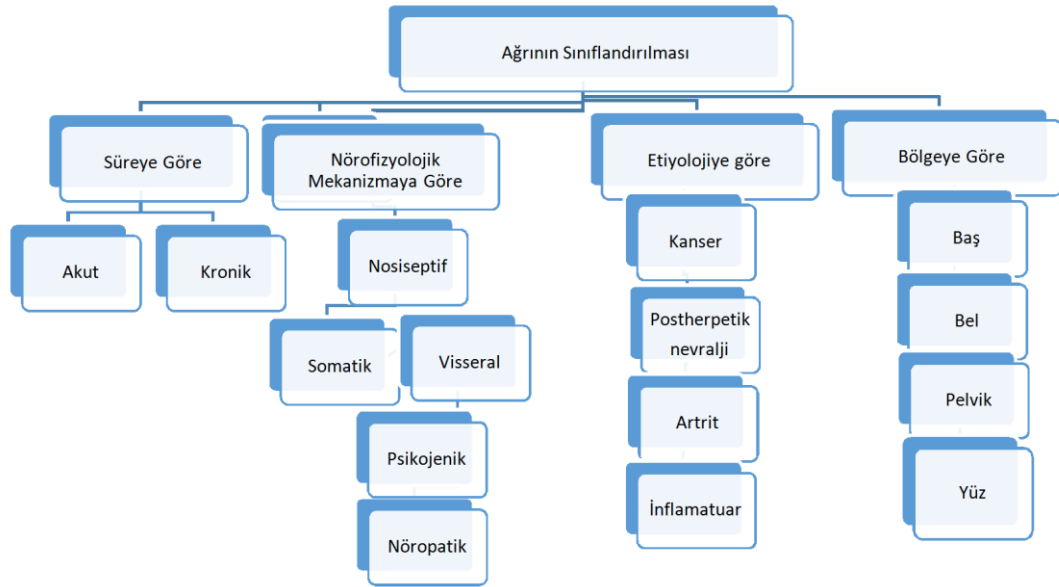
2.1. Ağrı

2.1.1. Ağrının Tanımı

Ağrı kelimesi, latincede işkence, ceza, intikam anlamlarına gelen “poena” kelimesinden türetilmiştir (Özyalçın ve ark., 2005). Ağrı tanımlaması zor bir kavram olmakla birlikte; Uluslararası Ağrı Çalışma Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından , “gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, hoş olmayan duyuşsal ve emosyonel subjektif bir deneyim” olarak tanımlanmıştır (Merskey ve Bogduk, 1994). Tanımdan da anlaşıldığı gibi ağrı karmaşık, çok boyutlu ve öznel bir kavramdır.

2.1.2. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı süresi, şiddeti, kaynağı, etyolojisi gibi faktörlere göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Şekil 2.1’ de ağrı sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Ağrının sınıflandırılması (Erdine, 2007)

2.1.2.1. Akut Ağrı

Akut ağrı; cerrahi, travma ve akut hastalıkla ilişkili kimyasal, termal ya da mekanik uyarana karşı verilen fizyolojik normal bir tepkidir (The Federation, 1998). Akut ağrı lokalizasyonu kolaydır ve ayrıca organizmayı korumaya yönelik bir semptomdur. Akut ağrı yaklaşık 3-6 ay sürer. Bu süreden daha uzun süren ağrılar ise kronik ağrı olarak sınıflandırılır (Aydın, 2002).

2.1.2.2. Nosiseptif Ağrı

Nosiseptif ağrı, nosiseptör adı verilen ve termal, kimyasal ya da mekanik uyarılara yanıt veren serbest sinir sonlanmalarının uyarılması sonucu oluşan ağrı türüdür (Bourne ve ark., 2014). Somatik ve visseral olarak ikiye ayrılır. Somatik ağrı; iç organların dışında yer alan, cilt, ciltaltı, kas, kemik gibi vücut bölgelerinde bulunan reseptörlerin uyarılması ile oluşan ve somatik duyuşal liflerle taşınan iyi lokalize edilen ağrı tipidir (Aydın, 2002). Ağrı genellikle batıcı, yanıcı, zonklayıcı tarzdadır (Önal, 2004). Yüzeysel ve derin ağrı olarak görülebilir (Marangoz, 1993). Visseral ağrı ise iç organlarda görülen iyi lokalize edilemeyen, sempatik sinir lifleri ile taşınan, yansıyan ve sıkıştırıcı tarzda olabilen ağrıdır (Özyalçın, 2005; Erdine, 2007).

2.1.3. Nosisseptörler

Ağrıyı algılayan reseptörler olarak da bilinen nosisseptörler deri, derialtı, eklemler, kaslar, periost ve bazı iç organlarda bulunan mekanik, termal ve kimyasal uyaranlara yanıt veren primer afferent nöronların özelleşmiş sinir uçlarından oluşur (Özyalçın, 2005; Bourne ve ark., 2014).

Nosisseptörler tarafından doku hasarının algılanıp, merkezi sinir sistemine iletilmesi ve burada belirli nöral yapılarda bütünleştirilerek bu zararlı tehdit durumunun algılanması ve bu duruma uygun biyolojik, fizyolojik, ve psikolojik önlemlerin harekete geçirilmesine ise “nosisepsiyon” adı verilir (Raja ve ark., 1999). Nosisepsiyon, genellikle ağrı ile aynı durum için kullanılır fakat birbirinden farklıdır. Tüm nosisseptif uyarılar ağrıyı oluşturur fakat tüm ağrılar nosisepsiyon sonucu oluşmaz (Morgan ve Mikhail, 1996).

Nosisseptörler uyarılma durumuna bağlı sınıflandırıldığında; mekanoreseptörler (iğne batırılması, şiddetli sıkma), termal nosisseptörler (şiddetli sıcak ve soğuk), kimyasal nosisseptörler (bradikinin, histamin, prostaglandinler, P maddesi) ve polimodal nosisseptörler (birçok uyaran sonucu aktive olan) olarak sınıflandırılabilir (Bourne ve ark., 2014).

Ağrının iletilmesinde görevli periferik sinirler; miyelinli, ileti hızı 6-30 m/sn ve kalın çaplı (2-5 μ m) olan **A-delta (A- δ) lifleri** ile miyelinsiz, ileti hızı 0,5-2 m/sn ve ince çaplı (0.4- 1.2 μ m) olan **C lifleri** olarak ayrılır. A- δ lifleri mekanik veya termal uyaran sonucu oluşan hızlı ağrı sinyallerinin iletilmesinde, C lifleri ise özellikle kimyasal uyaran sonucu oluşmakla birlikte tüm uyaranlarla aktive olan yavaş ağrı sinyallerinin iletilmesinde görevlidir (Guyton ve Hall, 2006).

2.1.4. Ağrının Algılanması

Ağrının reseptörler tarafından algılanıp, duyuşal sinir lifleri ile üst merkezlere iletilmesi 4 aşamada gerçekleşir (Yücel, 1997). Bunlar:

- Transdüksiyon; eşik değeri aşan uyaranların nosisseptörlerde elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü aşamadır.
- Transmisyon; nosisseptörler tarafından alınan ağrı duyusunun, A- δ ve C lifleri ile üst merkezlere iletilildiği aşamadır.

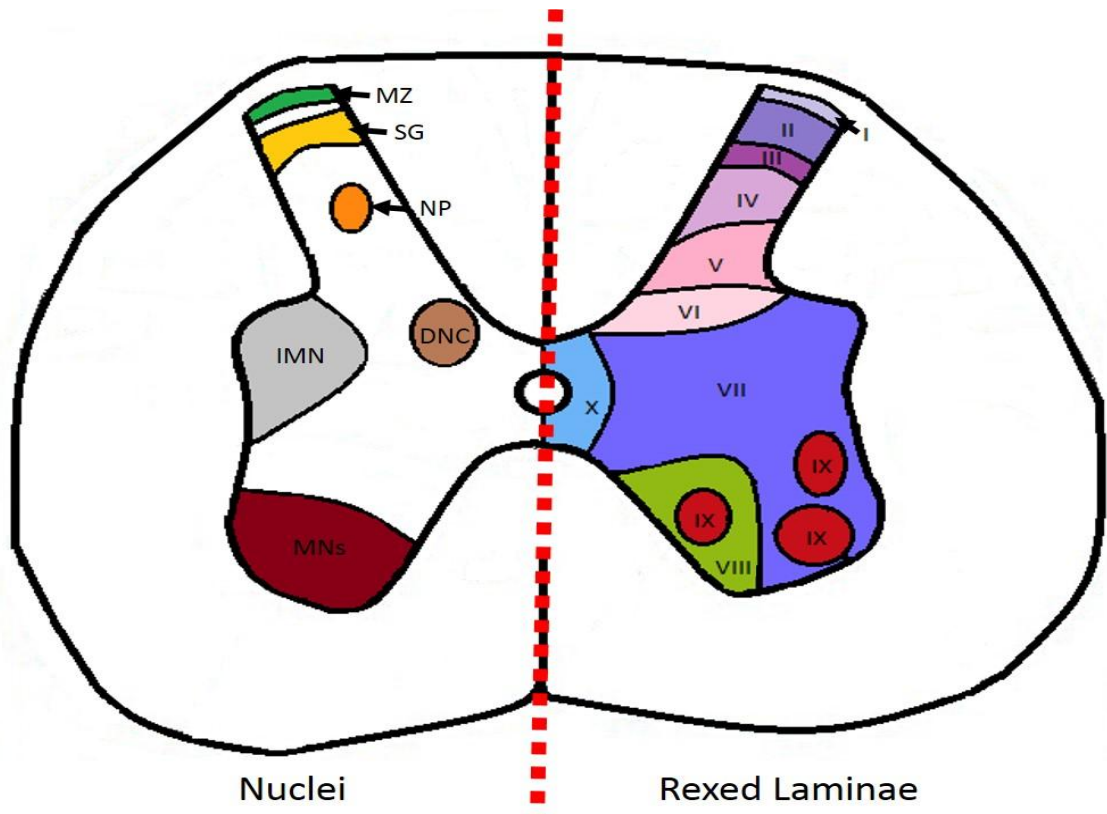
- c. Modülasyon; ağrılı uyarının spinal kordda değişikliğe uğrayarak modüle edildiği aşamadır. Ağrı burada değerlendirildikten sonra şiddeti artırılabilir ya da azaltılabilir.
- d. Persepsiyon; Medulla spinalisten geçen uyarının, nosiseptif çıkıcı yollarla üst merkezlere iletilerek ağrının algılandığı aşamadır.

2.1.5. Dorsal Boynuz Nöronal Sistemi

Ağrılı uyarıların taşıyan periferik liflerin hücre gövdesi, dorsal kök gangliyonlarında yer alır. Primer afferent nöronlar ağrı sinyallerini medulla spinalise ilettiğinde, burada ilk olarak dorsal boynuzda ikinci sıra nöronlarla sinaps yapar (Fields, 1985). Bu durumda spinal kord ağrının ikinci durağı olarak görülür. Dorsal boynuzda 3 çeşit nöron tipi vardır. Bunlar;

- a. Projeksiyon nöronları; bu nöronlar uyarıları anterolateral kolon üzerinden üst merkezlere iletirler. Nosiseptif spesifik (NS) nöronlar ve geniş dinamik aralıklı (WDR: Wide Dynamic Range) nöronlar olmak üzere 2 tip projeksiyon nöronu vardır. NS; genellikle A-delta ve C lifleri ile uyarılırken, WDR; hem nosiseptörlerden hem de düşük eşikli mekanoreseptörlerden uyarı alır.
- b. Eksitator ara nöronlar; bu nöronlar gelen uyarıları projeksiyon liflerine ileterek onların uyarılmasını sağlar.
- c. İnhibitör ara nöronlar; genellikle geniş çaplı lifler tarafından uyarılırlar ve projeksiyon liflerinde inhibisyon yaparlar (Sinatra, 1992; Heavner ve Willis, 2000).

Dorsal boynuzun gri cevheri Rexed tarafından 10 laminaya ayrılmıştır. Lamina I-VI arası dorsal boynuzu oluştururken, lamina VII- IX arası ventral boynuzu oluşturur. Lamina X ise medulla spinalisin santral kanalının etrafını saran nöronları içerir (Rexed, 1952). Şekil 2.2’de bölgeler gösterilmiştir.

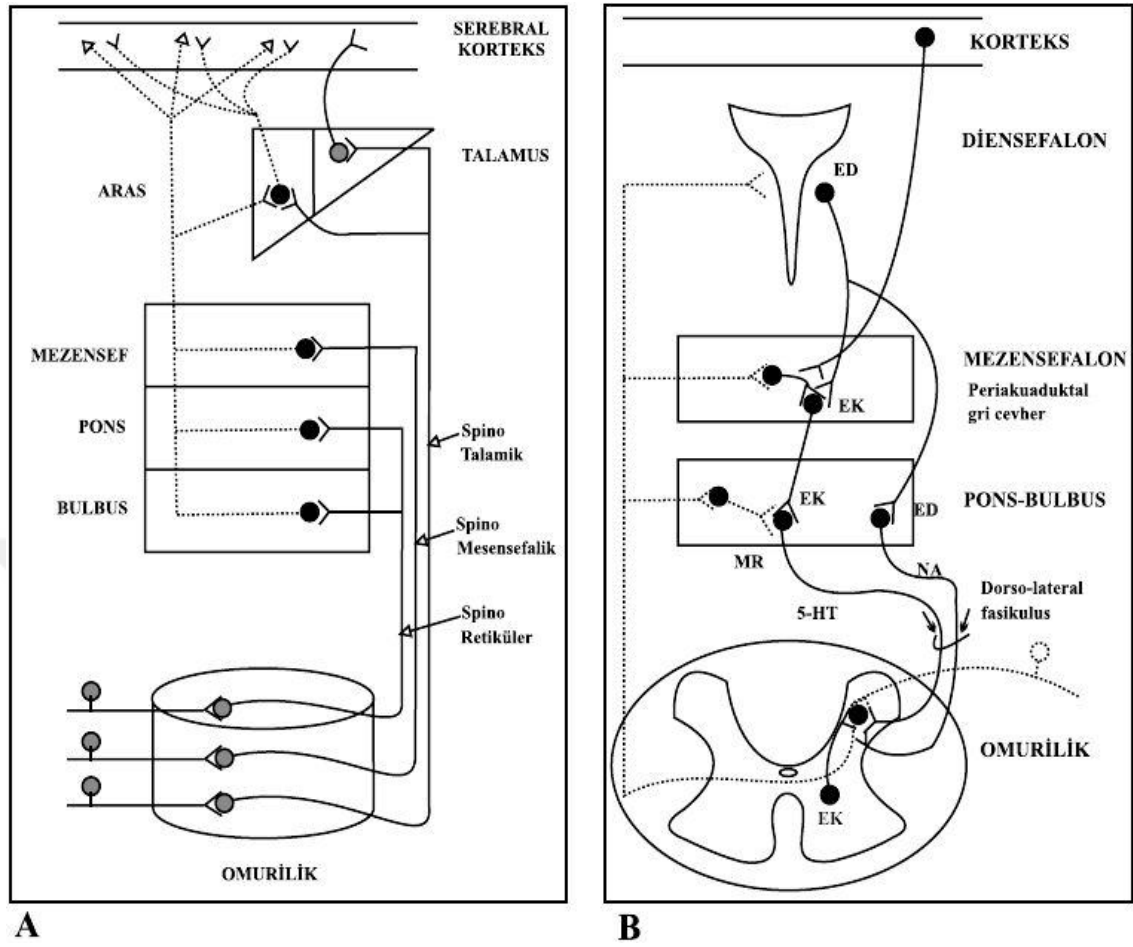


Şekil 2.2. Rexed'in medulla spinalis üzerinde tanımladığı laminaları
(<https://teachmeanatomy.info/neuroanatomy/structures/spinal-cord-grey-matter>,
Erişim tarihi: 10 Ocak 2021)

Ağrı iletiminde dorsal boynuzun özellikle lamina I, II ve V. bölgeleri sorumludur. A-delta ve C primer afferent lifleri lamina I kısmını oluşturan ve marjinal zone olarak adlandırılan bölüm ile lamina II'yi oluşturan ve substantia gelatinoza olarak adlandırılan bölgedeki 2. sıra nöronlarla sinaps yapar. Bazı A-delta liflerinin uzantıları ise daha derinde yer alan lamina V hücrelerine kadar ulaşır. Lamina V bölgesindeki nöronlar hem düşük eşikli mekanoreseptörler hem de nosiseptörler tarafından uyarıldığı için burada yer alan nöronlara WDR nöronlar da denir.

2.1.6. Ağrı Yolakları

Ağrı yolakları genel olarak nosiseptif çıkıcı yolaklar ve antinosiseptif inici yolaklar olmak üzere 2 grupta incelenir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. A-Nosiseptif çıkıcı, B-Antinosiseptif inisiyör yolları (Ertekin C, 1993)

2.1.6.1. Nosiseptif Çıkıcı Yolaklar

Medulla spinalisin dorsal boynuzuna iletilen ağrı sinyalleri burada yer alan 2. sıra nöronlarla sinaps yapar ve bu nöronlara ait aksonlar, implusları üst beyin bölgelerine çeşitli yollarla taşıyarak serebral kortekse ulaştırır. Bu yollar içinde en iyi bilinenleri spinotalamik yolak, spinoretiküler yolak ve spinomezensefalik yolaktır.

- a) Spinotalamik yolak:** Dorsal gangliyonda bulunan birinci sıra nöronlar nosiseptif uyarının gelmesiyle birlikte özellikle lamina I- IV ve V. 'de bulunan nöronlarla sinaps yapar ve burada bulunan ikinci sıra nöronların aksonları orta hattı geçerek karşı taraftan anterolateral yol ile yukarı, talamusa doğru çıkarak talamusun ventral posterolateral (VPL) çekirdeğinde sonlanır. İmpulslar talamustan üçüncü sıra nöronlarla kortekse iletilir ve postsentral girusta ve burada bulunan somato duyuşal alanda sonlanır. Spinotalamik yolak, özellikle

ağrının lokalizasyonu, şiddeti ve zamanı gibi özelliklerinin algılanmasını sağlar (Heavner ve Willis, 2000)

b) Spinoretiküler yolak: Bu yolaktaki nöronların aksonları lamina I, V ve VII den köken alarak medulla spinalisin karşı tarafına geçer ve anterolateral kolonu takip ederek yukarı çıkar. Medulla oblongata ve ponda yer alan retiküler alanda sonlanır. Uyarılar buradan limbik sistem ve hipotalamusa kadar ulaşır. Bu yolak ağrının algılanmasından daha çok ağrıya verilen emosyonel ve otonomik yanıttan sorumludur (Bourne ve ark., 2014). Ayrıca kortikal ve subkortikal yapıları olası zararlı uyarılara karşı uyanıklık içinde tutar (Aydın, 2002).

c) Spinomezencefalik yolak: Lamina I ve V'ten köken alan nöronların aksonları anterolateral sütunu takip ederek mezensefalik periaquaduktal gri cevherde sonlanır. Bu bölgede analjezik etkiye sahip enkefalinerjik nöronların bulunması, antinosiseptif mekanizmaların devreye girmesinde önemli bir yer olduğunun göstergesidir (Ertekin, 1993).

2.1.6.2. Antinosiseptif İnici Yolaklar

Ağrı sinyalleri merkezi sinir sistemine girdiği noktada, endojen opioidler (serotonin, norepinefrin, dinorfin, β -endorfin, met-enkefalin) aracılığıyla spinal ve supraspinal düzeyde inhibe edilerek, implusların üst merkezlere taşınması engellenir. Bu sistem üç gruba ayrılır:

- Mezensefalik periaquaduktal gri cevherde yer alan **enkefalinerjik nöronlar**'dır. Bu yerden çıkan nöronlar, implusları rafe magnus çekirdeği ve nukleus retikularis paragigantosellularise ileterek burada bulunan serotoninergic nöronlar ile sinaps yaparak serotonin nöronlarını uyarırlar. Buradan uyarılar omuriliğin dorsolateral kolonu içinden inerek dorsal boynuzda bulunan projeksiyon nöronlarında presinaptik ve postsinaptik inhibisyon oluşturlar (Guyton ve Hall, 2006).

- Retiküler formasyonun bazı çekirdeklerinden başlayarak, medulla spinalis dorsal boynuzunda sonlanan **noradrenergik nöronlar**. Bu nöronların başlıca nörotransmitteri norepinefrindir. Ağrının inhibe edilmesinde monaminlerin etkisini incelediğimizde antidepressanlar bunu serotonin ve katekolaminlerin geri alınmasını bloke ederek gerçekleştirir.

- Üçüncü grup ise spinal yerleşimli enkefalinergic nöronların rol oynadığı

antinosiseptif spinal segmenttir. Burada ayrıca dinorfin taşıyan nöronlarda vardır. Bu nöronlar hem C lifleri hem de A- δ liflerinden taşınan impluslarla eksite olarak presinaptik ve postsinaptik inhibisyona yol açar.

Monoaminergic ve enkefalinergic nöronların antinosiseptif etkileri, projeksiyon nöronlarında potasyumun membran iletkenliğini arttırarak, oluşan hiperpolarizasyon ile gerçekleşir (Hudspith ve ark., 2005). Sinir sisteminde başlıca inhibitör olarak bulunan maddelerden, gama amino butirik asit (GABA)'nın da antinosiseptif mekanizmalarda rol oynadığı düşünülmektedir.

2.1.7. Ağrı Ölçümünde Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri

Deneysel ağrı modellerinde amaç ağrının özelliklerini ve oluşum mekanizmasını açıklamak ya da herhangi bir maddenin ağrıya olan etkisini ve yeni analjezik ilaçları incelemektir. Deney hayvanlarında ağrının oluşturulmasında mekanik, termal, kimyasal veya elektriksel uyarıların kullanıldığı çeşitli yöntemler olmakla birlikte sözel iletişimin olmaması ağrı eşiğinin ve analjezinin değerlendirilmesini zorlaştırır. Bu nedenle ağrıya yanıt olarak verilen motor davranışların iyi bilinmesi gerekir (Uzbay, 2004).

2.1.7.1 Termal Uyarı İle Oluşturulan Ağrı Modelleri

Tail- Flick testi: Kuyruk çekme olarak bilinen bu yöntem ilk defa, D'Amour ve Smith tarafından 1941 de tanımlanmıştır (D'Amour ve Smith, 1941). Hayvanın kuyruğunun belirli bir noktasına lambadan gelen radyant ısı uygulanır (Şekil 2.4) ve hayvan ağrıyı hissederek kuyruğunu çektiği zaman cihaz kapanır ve ısının uygulanmasından kuyruğun çekilmesine kadar geçen süre kaydedilir. Bu süre hayvanın ağrı eşiği olarak kabul edilir. Kuyrukta herhangi bir doku hasarı oluşmaması için testin belli bir süre sonra sonlandırılması gerekir. Bu süre cut- off (test sonlandırma) süresi olarak adlandırılır ve genellikle 7-15 sn olarak belirlenir (Tjolsen ve ark., 1989). Analjezik etki oluşturan ilaçlar, ısı sonucu oluşan ağrıya karşı dayanıklılığı arttırarak kuyruk çekme süresini uzatırlar.

Tail İmmersiyon testi: Bu testte hayvanın kuyruğu termostat ile sıcaklığı sabit tutulan sıcak suya batırılır. Hayvan bu esnada kuyruğunu veya tüm vücudunu yukarı doğru çekerek tepki verir. Bu tepki süresi ağrı eşiği olarak kaydedilir (Kartal ve Özyalçın, 2004).



Şekil 2.4. Deney hayvanlarında ağrı eşiğini belirlemede kullanılan tail-flick testi

Hot-Plate Testi: Sıcak plaka testi olarak bilinen bu test, 1953 yılında Eddy ve Leimbach tarafından geliştirilmiştir (Eddy ve Leimback, 1953). Test sırasında hayvan yaklaşık 50-56 °C ısıtılmış alüminyum ya da bakır levha üzerine koyulur. Hayvanın yüzey üzerinde kalabilmesi için hareketini sınırlamayacak şekilde levhanın etrafında cam ya da pleksiglas silindirler kullanılır (Şekil 2.5). Hayvan sıcak plakaya koyulduktan sonra arka ayağını kaldırma hareketi gözlemlenir ve arada geçen süre kaydedilir. Ancak burada ağrıya verilen tepkisel davranışlar da değişmeler olması testin değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Ayak çekme dışında, pençe yalama, sıçrama, tekmeleme gibi davranışlarda gözlemlenebilir. Doku hasarına karşı cut-off süresi mutlaka belirlenmelidir.



Şekil 2.5. Deney hayvanlarında ağrı eşiğini belirlemede kullanılan hot- plate testi

2.1.7.2. Mekanik Uyarı ile Oluşturulan Ağrı Modelleri

Kuyruk Sıkıştırma Testi (Tail Clip Test): Haffner tarafından geliştirilen bu testte, deney hayvanlarının kuyruk bölgesine takılan metal klamp ile mekanik basınç uygulanır ve hayvanların dönüp klampı ısırma süreleri kronometre ile kayıt edilir (Haffner, 1929).

Von Frey Testi: Fizyolog Maximilian von Frey tarafından geliştirilen manuel Von Frey testi, farelerde ve sıçanlarda mekanik allodini değerlendirmenin bir yöntemidir. Hayvanlar von Frey filamentleri adı verilen küçük örgü şeklinde kafeslere tek tek yerleştirilir. Ölçümler saniyede iki kez ve peş peşe beş defa olacak şekilde arka pençe tabanına, en düşükten gittikçe artan bir kuvvetle basınç uygulanır ve hayvan pençesini çektiğinde test sonlandırılarak eşik değer kayıt edilir (Kartal ve Özyalçın, 2004).

2.1.7.3. Kimyasal Uyarı ile Oluşturulan Ağrı Modelleri

Formalin Testi: Bu test Dubuisson ve Dennis tarafından 1977’ de bulunmuştur ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Dubuisson ve Dennis, 1977). Hayvanların sağ ya da sol arka pençesinin derisine formalin enjeksiyonu en yaygın kullanılan prosedürdür. Enjeksiyon sonrası hayvanda oluşan ağrıya bağlı pençe yalama ve ısırma davranışları gözlemlenir (Tjolsen ve ark., 1992).

2.2. Opioid Analjezikler

Opioidler uzun yıllardan beri kullanılan analjezik etkisi çok güçlü olan ancak uzun süreli kullanımlarda bağımlılık ve tolerans neden olabilen ilaç grubudur. Opioidlerin kaynağı haşhaş bitkisinden elde edilen ve afyon sakızı olarak da bilinen opium (afyon)’ dur (Kayaalp, 2009). Doğal ya da sentetik olarak elde edilebilirler. Opium içerisinde çok sayıda alkaloid olmakla birlikte bunlardan çok az bir kısmı klinikte kullanılır. İçlerinde %8- 14 oranında bulunan, fenantren türevi olan morfin en önemlisidir (Dökmeci, 2007).

Opioidlerin vücuttaki etkileri endojen opioid sistemi (EOS) aktivasyonu ile gerçekleşir. EOS; başta sinir sistemi olmak üzere, immün sistem, üreme sistemi gibi diğer sistemlerde de bulunan opioid reseptörleri ve endojen opioid peptidlerden oluşur (Erdine, 1999).

2.2.1. Endojen Opioid Peptidler

Proopiomelanokortin, proenkefalin ve prodinorfin olarak adlandırılan üç büyük protein molekülünün yıkım ürünü sonucunda oluşan; β -endorfin, met-enkefalin, leu-enkefalin ve dinorfin endojen opioid peptidleri oluştururlar. Enkefalinler ve dinorfinler analjezik sistemin bir bölümü olarak beyin sapında ve medulla spinaliste bulunurken, β -endorfin hem hipotalamus hem de hipofiz bezinde bulunur. Beyindeki opiat sistemi ile ilgili araştırmalara rağmen opioid peptidlerin fizyolojik görevleri tam olarak anlaşılmamakla birlikte bu peptitlerin hedef nöronların presinaptik ve postsinaptik membranlarında bulunan opioid reseptörlerine bağlanarak ağrı sinyallerini inhibe ettiği bilinmektedir (Guyton ve Hall, 2006).

2.2.2. Opioid Reseptörleri

Opioid reseptörleri, G protein bağlı reseptör (GPCR) superfamilyasına kenetli, membranı yedi defa kat eden serpentin reseptörleridir (Kayaalp, 2005). Yapılan

araştırmalarda insan vucunda opioid peptidlerin bağlandığı çeşitli reseptör ve alt tipleri bulunmuştur. Bu reseptörler içerisinde başlıca 3 büyüğü; Mü (μ), Delta (δ) ve Kappa (κ) reseptörleridir (Unna, 1943).

Mü (μ) Reseptörleri: Opioidlerin tedavi edici etkileri primer olarak bu reseptörler üzerinden gerçekleşir. En güçlü agonisti morfindir. 2 alt tipi olan mü reseptörleri, μ_1 reseptörleri aracılığıyla supraspinal analjezi oluştururken, μ_2 reseptörlerinin ise morfine olan afinitesi düşük olup öfori, solunum depresyonu, intestinal motilite ve fiziksel bağımlılık oluşturur (James ve ark., 1992). Bu reseptörlerin lokalizasyonu büyük oranda periakvaduktal gri bölge, spinal kord, talamus ve kortekstir.

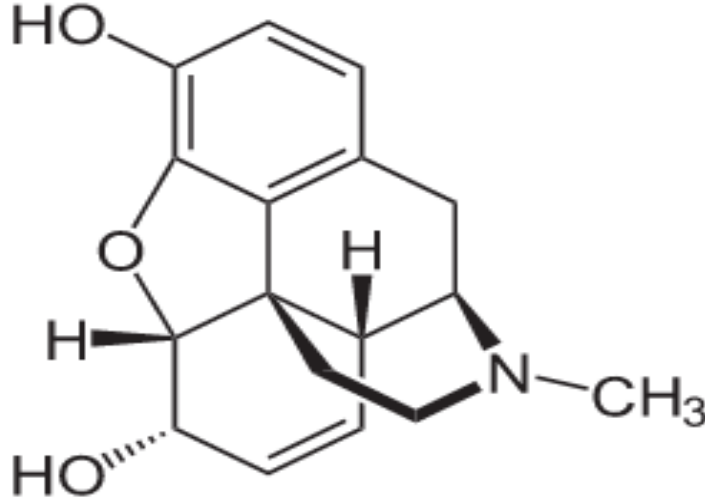
Delta (δ) Reseptörleri: Bu reseptörler hem spinal hem de supraspinal analjeziden sorumlu olup, enkefalinler tarafından uyarılırlar. Limbik sistemde yoğun olarak bulunan bu reseptörler, disforik etkilerdende sorumludur (Adler ve ark., 1990).

Kappa (κ) Reseptörleri: Dinorfinler tarafından uyarılan bu reseptörler, postgangliyonik sinir ucundan asetilkolin (Ach) salgılanmasını inhibe etmektedir (akıcı ve ark., 1987). Serebral korteks nöronlarında, periferik duyu nöronlarında, limbik sistemde ve talamus da lokalize olan bu reseptörler spinal ve supraspinal analjezi, ağrının algılanması, motor kontrol, sedasyon gibi etkilerden sorumludur (Kayaalp, 2005). Opioid reseptörlerin uyarılması ile GPCR'ler siklik adenzin monofosfat (cAMP) üretimini inhibe eder ve cAMP aktif bölgeyi kapatacak adenil siklaz enziminin yapısında bir konformasyon oluşturarak ağrı iletimini engeller. Opioid reseptörlerin, cAMP sinyal yolağı inhibisyonu, G protein alt tipi $G\alpha_i$ 'ye bağlı olarak gerçekleşir (Taussig, 1993). Agonistler reseptörlerine bağlandığında reseptör yapısı değişerek, kalsiyum kanalları kapanır ve nörotransmitterlerin sentezi için gereken kalsiyum iyonları olmadığından sinir iletimi kesilir ve ağrı mesajları iletilemez. Agonistlerin bir diğer etkisi de potasyum iyonunun geçirgenliğini arttırarak, membranın hiperpolarize olmasına yol açmasıdır. Bu durum nöronun eksitabilitesini azaltır ve ağrı iletimini inhibe eder (Kayaalp, 2005).

2.3. Morfin

Morfin, ağrı tedavisinde en yaygın kullanılan opioid analjeziklerden olup, fenantren grubu üyesidir. Haşhaş bitkisinden elde edilen morfin, ilk olarak 1817 de bu ismi almıştır.

Morfin isminin kaynağı uyku tanrısı anlamına gelen “morpheus” sözcüğünden gelmektedir. Morfin hidroklorür (HCl) ya da sülfat tuzu şeklinde kullanılmaktadır (Kayaalp, 2009). Kimyasal yapısı Şekil 2.6’ da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Morfinin kimyasal yapısı (C₁₇H₁₉NO₃)

2.3.1. Morfinin Farmakokinetiği

Morfin oral yoldan kullanıldığında mide ve barsak kanalından hızlı ve tam olarak absorbe olmasına rağmen, karaciğerden ilk geçişte elimine edildiği için biyoyararlanımı oldukça düşüktür. Bu nedenle klinikte oral yoldan kullanımı nadirdir. Genellikle intravenöz, intramüsküler ve subkutan uygulanır. İntravenöz uygulamalarda etkisi birkaç dakika içerisinde başlar. 10-20 dakikada maksimuma ulaşır ve büyük oranı 1 saat içerisinde elimine edilir. Diğer parenteral yollardan uygulandıktan sonra ise yaklaşık 20 dakika sonra analjezik etki başlar, 45-90 dakikada maksimuma ulaşır ve 4-6 saat boyunca analjezik etki devam eder. Erişkin dozu ortalama 10 miligram olup, gerektiğinde dozlar 4 saatte bir tekrarlanabilir.

Morfin %25-35 oranında plazma proteinlerine bağlanır, büyük bir kısmı karaciğerde hidroksil grupları glukronatlanarak polar metabolitlere (normorfin, morfin-3-glukuronid, morfin-6-glukuronid) dönüştürülür. Metabolitlerin büyük bir kısmı böbrekler yoluyla elimine olur. Yaklaşık %10 kadar az bir kısmı ise safra yoluyla atılır. Plazma yarılanma ömrü ortalama 3 saat kadardır (Kayaalp, 2009; Dökmeci, 2007). Lipitte eriyebilirliği yok denecek kadar azdır. Bu nedenle morfinin santral sinir

sistemine ulaşması gecikir ve etkiside geç başlayıp, uzun sürer. Ayrıca lipofilik olmadığı için yağ dokusunda aşırı miktarda depolanabilir. (Cingi ve ark., 1996).

2.3.2. Morfinin Farmakolojik Etkileri

Morfinin en önemli farmakolojik etkisi analjezi sağlamasıdır. Bunu hem spinal hem de supraspinal düzeyde gerçekleştirir. Ağrı eşiğini yükselterek ağrıyı algılamayı zorlaştırır, ağrı duyusunu modüle eder (ağrıyı algılamalarına rağmen bundan rahatsızlık duymamaları), ağrıya karşı oluşan reaksiyonları azaltır. Kronik künt ağrılarda daha etkilidir (Dökmeci, 2007).

Morfin analjezik etkisini nosiseptif primer afferent nöronların presinaptik uçlarında yerleşmiş olan opioid reseptörlerine bağlanarak, endojen opioid peptidleri taklit etmek suretiyle gerçekleştirir (Lipp, 1991). Opioid reseptörlerin aktif hale gelmesiyle adenilat siklaz inhibe edilir ve hücre içine kalsiyum girişi azalır. Kalsiyum konsantrasyonunun düşmesi, başta glutamat olmak üzere asetilkolin, noradrenalin, dopamin, P maddesi ve 5-hidroksitriptamin salınımını inhibe eder. Ayrıca postsinaptik kanallarda K^+ kanallarını açarak membranı polarize eder ve inhibitör postsinaptik potansiyel oluşur. Bu mekanizmalar sonucunda spinal düzeyde analjezik etki meydana gelir (İnturrisi, 2002).

Beyin sapı düzeyindeki opioid reseptörler aracılığıyla ise supraspinal analjezi sağlanır. Talamustaki nöronların ve subkortikal korteksinde az da olsa supraspinal analjeziye katkısı vardır (Kayaalp, 2012). Morfinin bir diğer etkisi medulla oblongatada bulunan öksürük merkezini deprese ederek antitusif etki oluşturmastır (Mycek ve ark.,1998).

Düz kasların motilitesini azaltıp, tonusunu arttırması nedeniyle diyare tedavisinde de kullanılabilir. Ağrısı olan ya da bağımlı olan hastalara morfin uygulandığında öfori oluşurken (mü reseptörleri ile) normal sağlıklı kişilerde kappa ve sigma reseptörleri aracılığı ile disfori oluşur. Santral sinir sistemindeki bir diğer etkisi de uyku hali ve mental bulanıklıkla birlikte sedatif etki oluşturmastır. Yüksek dozlarda uygulanan morfin hipotansiyon ve bradikardi oluşturur. Solunum sistemi üzerinde morfinin etkisi ise solunum hızını ve derinliğini azaltarak solunumu deprese etmesidir. Doza bağlı olarak solunum merkezinin karbondioksit ile duyarlılığını azaltır.

2.3.3. Morfin toleransı

Morfinin uzun süre tekrarlı kullanımlarında analjezik etkisinde azalma meydana gelmesiyle tolerans oluşur. Aynı terapötik etkiyi sağlamak için doz miktarının

arttırılması gerekir. Morfinin sadece ağrıyı durdurma değil, sedatif ve solunumu deprese edici etkilerine karşı da tolerans gelişir. Opioidlerin analjezik etkisine tolerans gelişmesi kronik ağrının tedavisinde klinik kullanımı zorlaştırır (Mayer ve ark., 1995; Alboghobeish ve ark, 2019). Ayrıca dozdaki artış morfinin yan etkilerinde de artmalara yol açabilmektedir. Bu klinik sorunlar, opioid reseptör toleransı, regülasyonu ve sinyal iletiminin moleküler ve farmakolojik mekanizmalarının daha iyi anlaşılması gerektiğini göstermektedir (Al-Hasani ve Bruchas, 2011).

Morfin toleransı, morfin metabolizmasının artması sonucu gelişen biyokimyasal bir tolerans değil, reseptör duyarlılığı ve sayısında azalmaya bağlı gelişen farmakodinamik bir toleranstır (Kayaalp, 2012). Tolerans gelişmesi morfinin normal tedavi edici dozlarda alınmasıyla birlikte başlamasına rağmen, genelde klinik belirtiler 2–3 haftalık kullanımdan önce ortaya çıkmaz. Yüksek dozların kısa aralıklarla verilmesi tolerans gelişimin hızlandırırken, düşük dozların geniş aralıklarla verilmesi tolerans gelişmesini yavaşlatır.

Tolerans mekanizması tam anlaşılmamakla birlikte bazı rol oynayan faktörler düşünülmüştür. Bunlar; opioid reseptör desensitizasyonu, reseptör down-regülasyonu, reseptör afinitesindeki değişiklikler, reseptörlerin internalizasyonu, siklik adenosin monofosfat (cAMP) transdüksiyon sisteminin up-regülasyonu ve sinyal iletim basamaklarındaki değişikliklerdir (Schumacher, 2015; Liu ve Anand, 2001). İn vivo çalışmalar nörotransmitterlerin de opioid yolaktaki tolerans gelişimine yol açtığını göstermiştir. Morfin toleransında opioid reseptör konformasyonunun değişmesine ek olarak glutamat sinyal iletimi de artar (Shen ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör antagonistlerinin, glutamatın etkilerini önleyerek morfin toleransını engelledikleri saptanmıştır (Trujillo ve Akil, 1991). Glutamat ve inorganik iyonların sinaptik aralıktaki konsantrasyonlarında küçük değişiklikler, Ca^{+2} akışına izin verir ve L-arjinin'den nitrik oksite (NO) dönüştüren nöronal nitrik oksit sentazı (nNOS) aktive eder. Son olarak, NO, toleransta aracı bir medyatör olan guanil siklaz yoluyla, guanozin trifosfatın (GTP), siklik guanozin monofosfat'a (cGMP) dönüşümüne aracılık eder. Kronik opioide maruz kalma, opioid toleransının gelişmesine katkıda bulunan hücre içi Ca^{+2} , NO ve cGMP seviyelerini artırarak, NMDA reseptör fonksiyonunu arttırır. Antinosisepsiyonu arttırmak ve toleransı geciktirmek için NMDA reseptör antagonistlerinin veya L-argininden nitrik

oksit sentaz (NOS) üreten inhibitörlerin kullanılmasının etkili olduğu kanıtlanmıştır (Zhao ve Joo, 2006).

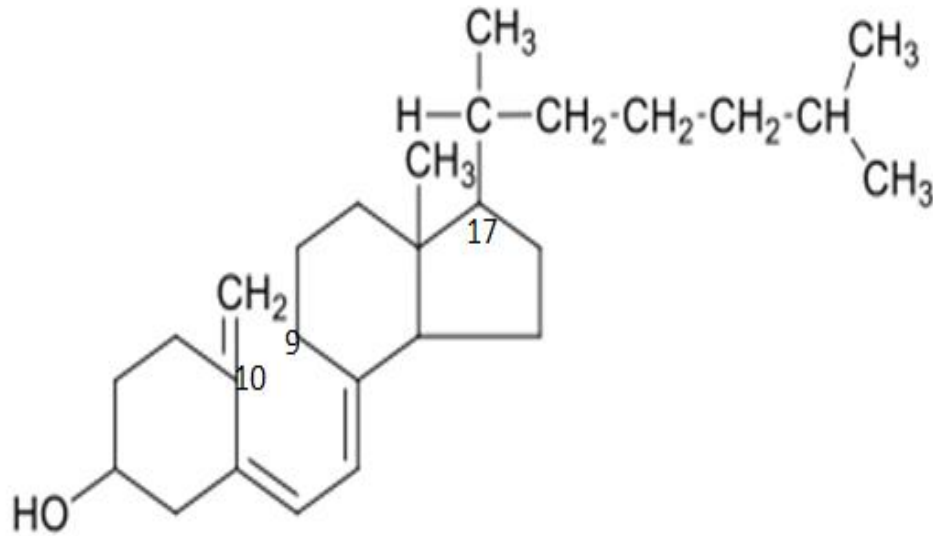
Ayrıca serotonin, noradrenalin, dopamin, GABA, benzodiazepin, adenosin, eksitator aminoasitler, nitrik oksit, asetilkolin, oksitosin ve vazopressin gibi nörotransmitterler ve nöromodulatorler de tolerans oluşumunda rol oynamaktadır (Raghavendra ve Kulkarni, 2000). Yapılan başka bir çalışmada, NO sentezinin engellenmesi, yani NOS enziminin antagonistleri morfine tolerans gelişimini önlemiştir (Kolesnikov ve ark., 1993). Farklı araştırmalar sonucu da tekrarlayan morfin uygulamalarının NOS biyosentezini arttırdığı düşünülmüştür. Nitro- L- Arginin (L-NA) veya Nitro- L- Arginin- Metilesterin (L-NAME) morfinle birlikte uygulanması morfine tolerans gelişimini engellemiş ve farelerde morfin bağımlılığının bazı bulgularını hafifletmiştir (Majeed ve ark., 1994).

2.4. Vitamin D

2.4.1. Vitamin D Tanımı ve Tarihçesi

Vitamin D, vücutta temel olarak kemik metabolizmasında, kalsiyum ve fosfor homeostazisinin sağlanmasında sorumlu vitamin olarak bilinir (Reid ve ark., 2014). Aslında, vitamin olmasının yanı sıra vitamin D, derinin güneş ışığı ile teması sonucu ciltte üretilen, yağda çözünen, secosteroid yapıda bir prohormondur (Özçelik ve ark., 2012). Prohormon olarak adlandırılmasının nedeni, bir endokrin bez aracılığıyla sentezlenip salgılanmadığı için sıradan bir hormon özelliği olmamasına rağmen, de novo sentezlenip uzak hedef hücrelerde reseptöre bağlanarak etki ortaya çıkarmasıdır.

Dört halkalı steroid çekirdek yapısına sahip olan vitamin D halkasının 5-6 ve 7-8 karbonları arasında iki çift bağ vardır; 9-10. karbonlar arasında halka açılmıştır. D vitamininde doymuş halka sistemi ve 17. karbonuna bağlı 8-9 karbonlu yan zinciri ile 25 karbonlu bir sterol türevidir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Vitamin D halkası (Akkoyun ve ark., 2014)

Vitamin D ilk olarak 1919 - 1920’li yıllarda vitamin olarak sınıflandırılmış olup, insanlarda eksikliğinin ise ilk kez Endüstri Devriminin ortaya çıkması ile gündeme geldiği belirtilmiştir (Türken, 2011).

1923 ‘de Goldblatt ve Soames, ciltte vitamin D’nin öncül bir maddesinin olduğunu ve güneş ışığı ile temas sonucunda yağda eriyen vitamin D’nin üretildiğini ortaya çıkarmışlardır (Goldblatt ve Soames, 1923). 1975 yılında vitamin D’nin bağlandığı nükleer reseptör saptanmıştır (Brumbaugh ve Haussler, 1975).

1970’li yılların sonlarında, kandaki D vitamini seviyesinin sadece kalsiyum ve fosfor metabolizması üzerinde etkili olduğu düşünülmekteydi. Fakat ilerleyen yıllarda birçok dokuda (pankreas, meme, bağırsak, akciğer, gonadlar, T ve B lenfositler, mide, deri, beyin, kalp) vitamin D reseptörünün (VDR) varlığı saptanınca D vitamininin sadece kalsiyum ve fosfor metabolizması değil birçok dokuda etkili olduğu anlaşılmıştır (Gülcü, 2011).

2.4.2. Vitamin D Sentezi ve Metabolizması

Vitamin D, diyetten ve güneş ışığı etkisi ile ciltten elde edilir. Vücutta, deride sentezlenen ve bazı hayvansal diyet kaynağından elde edilen kolekalsiferol (D3) ve diyetteki bitkisel kaynaklardan alınan ergokalsiferol (D2) olmak üzere iki şekilde

bulunur. Vitamin D endojen olarak vücutta üretilebilmesinin yanısıra besin kaynakları ile dışarıdan da alınabilmektedir. (Holick, 2007). D2 vitamini ön-vitamin olan bitkisel kaynaklı ergosterol şeklinde besinler yoluyla alınır ve ciltte depolanır. Cildin ultraviyole (UV) ışınlarına maruziyeti sonucu ergosterol, ergokalsiferole dönüşür. Vitamin D2 bitkilerde, yosunlarda ve mantarlarda bulunur, vitamin D3 ise hayvan dokularında bulunur. D vitamini en fazla yağlı balıklarda (uskumru, ringa balığı, somon, sardalya) karaciğerde, yumurta sarısında, maydanoz, brokoli, süt ve süt ürünlerinde bulunmaktadır (Holick, 2006). Ancak bu besinler günlük ihtiyacı karşılamakta yetersiz olduğu için normal şartlarda D vitaminin yaklaşık %90'ı endojen yolla sentez edilir.

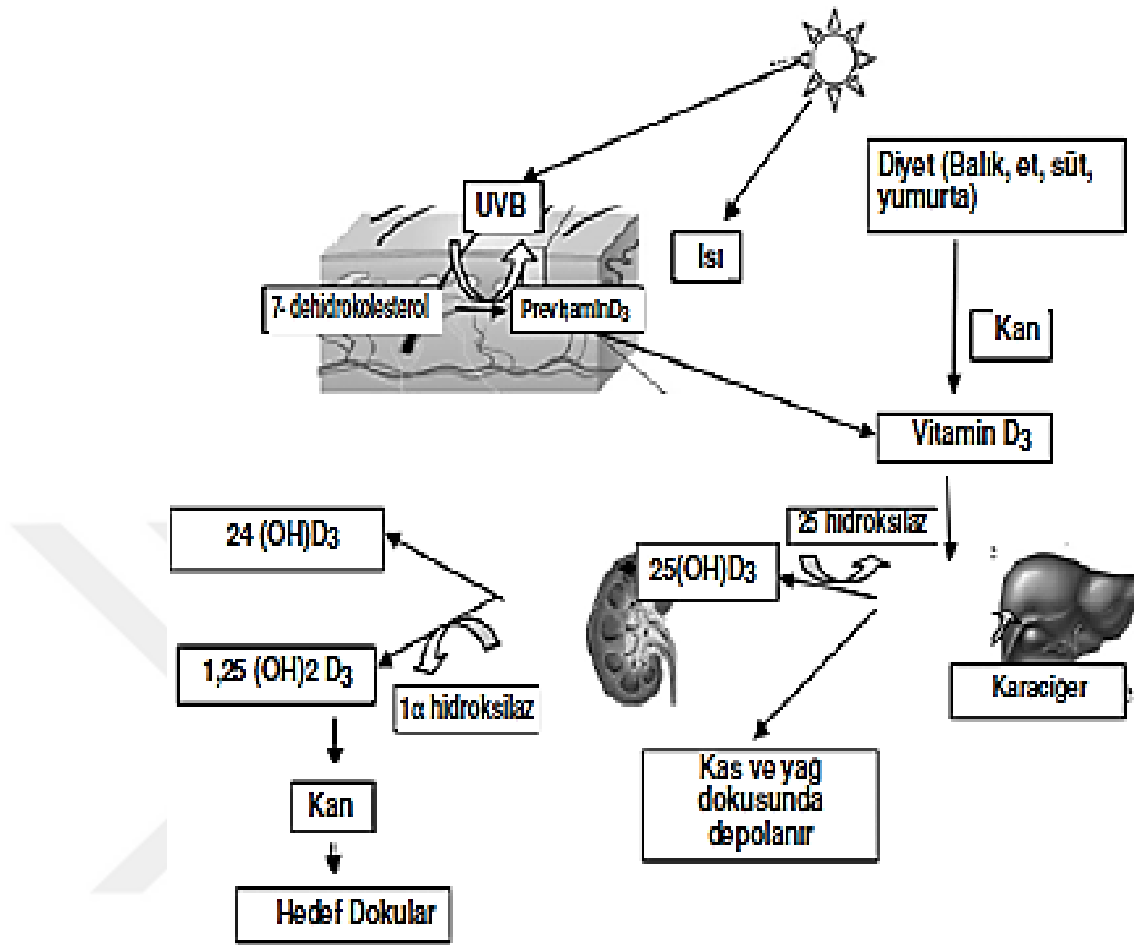
Endojen vitamin D üretimi, derinin 290-315 dalga boyundaki ultraviyole- B ışınlarına maruziyeti sonucunda karaciğerde sentezlenen ve dolaşım yoluyla derinin malphigi tabakasına gelen ve pro-D3 olarak adlandırılan 7-dehidrokolesterolün öncelikle previtamin D3'e ve sonra da izomerizasyon ile vitamin D3'e dönüşümüyle meydana gelmektedir (Norman ve Powell, 2014). Vitamin D yapı bakımından farklı olsada aslında hem D2 hem de D3'ü temsil eder. Bu iki formun insanlarda eşit derecede biyolojik aktivitesi vardır ve ister ince barsaklardan absorbe edilsin, ister deride sentez edilsin başlangıçta vitamin D aktif şekilde değildir ve aktif metabolitlerine dönüşebilmesi için iki adet hidroksilasyon işlemi gerekir (Holick, 2007).

Diyetle alınan veya endojen olarak sentezlenen vitamin D2 veya vitamin D3 yağ hücrelerinde depolanır ve ihtiyaç durumunda dolaşıma salınır. Kan dolaşımına katılan vitamin D, D vitamini bağlayıcı protein (D-binding protein; DBP) olan α -1 globuline bağlanarak karaciğere taşınır. DBP, D vitamininin bütün şekillerini bağlar. Serbest formda bulunan miktarı % 1 - 3 iken DBP' ye bağlı miktarı % 97 - 99 oranındadır. Karaciğere gelen D vitamininde ilk hidroksillenme 25- hidroksilaz enzimi (CYP2, CYPA4, CYP2R1, CYP27A1) aracılığı ile mitokondri ve mikrozomlarda 25. pozisyonda gerçekleşir, besinin dışarıdan hazır alınıp alınmamasına bağlı olarak, 25-hidroksiergokalsiferol 25(OH)D₂ veya 25-hidroksikolekalsiferol 25(OH)D₃ oluşur. Deride üretilen ve dışarıdan alınan D vitamini, sitokrom p450 ve 25- hidroksilaz (CYPA27A1) enzimi aracılığı ile 25(OH)D'ye dönüşür (Şekil 8). Bu madde 'kalsidiol' olarak adlandırılmaktadır. Kalsidiol, DBP'ye bağlanarak dolaşım yolu ile böbreğe gelir. Böbrek proksimal tübül hücrelerinin mitokondrileri, 1 α hidroksilaz enzimi içeriği bakımından zengindir. Kalsidiol, böbrekte 1 α hidroksilaz enzimi (CYP27B1) ile 1.

pozisyonda tekrar hidroksillenerek 1,25 hidroksikolekalsiferol ($1,25(\text{OH})\text{D}_3$) veya 1,25 hidroksiergokalsiferol'e ($1,25(\text{OH})\text{D}_2$) dönüşür ve oluşan bu aktif metabolit olan 1,25 dihidroksivitamin D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) “kalsitriol” olarak adlandırılır (Jones ve Prosser, 2011; Jones ve ark., 2014).

1α hidroksilaz enzimi D vitamininin sentezinde en önemli enzimdir ve yapılan çalışmalarda böbrek dışında kolon, pankreas, meme, plasenta, desidua, granülamatoz dokuda, aktive edilmiş makrofajlarda ve ciltte keratinositlerde de 1α -hidroksilaz ekspresyonu ile kalsitriol sentez edildiği bulunmuştur (Holick, 2004).

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ biyolojik etkisini nükleer reseptör süperaillesinin bir üyesi olan ve birçok doku ve organda bulunan vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir (Jameson, 2013). Vitaminin D' nin yıkımı 24-hidroksilaz enzimi ile meydana gelir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, 24-hidroksilaz enzimini uyarır ve 24. pozisyonda hidroksilasyonla $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oluşur. Bu metabolit, 1α -hidroksilaz enzimini inhibe eder (Ersöz, 2002). Ayrıca, 1α -hidroksilaz enzimi $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tarafından “negatif feedback” mekanizması ile kontrol edilmektedir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyinde artış negatif feedback yardımıyla $25(\text{OH})_2\text{D}$ sentezini de inhibe eder (Christakos ve ark., 2010).



Şekil 2.8. Vitamin D metabolizması (İyidir ve Altınova, 2012)

Vitamin D'nin aktif formu $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ etki yönünden çok kuvvetlidir, ancak vücuttaki vitamin D miktarı hakkındaki en güvenilir bilgiyi veren parametre $25(\text{OH})\text{D}$ 'dir. Çünkü D vitamininin en aktif şekli olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin yarılanma ömrü 3-6 saat, $25(\text{OH})\text{D}$ 'nin yarılanma ömrü ise 20 gündür. Ayrıca $25(\text{OH})\text{D}$, kalstriole göre vücutta 1000 kat daha fazla bulunmaktadır. Bu yüzden D vitamini eksikliği tanısında $25(\text{OH})\text{D}$ ölçütü kullanılmaktadır (Buğrul, 2011).

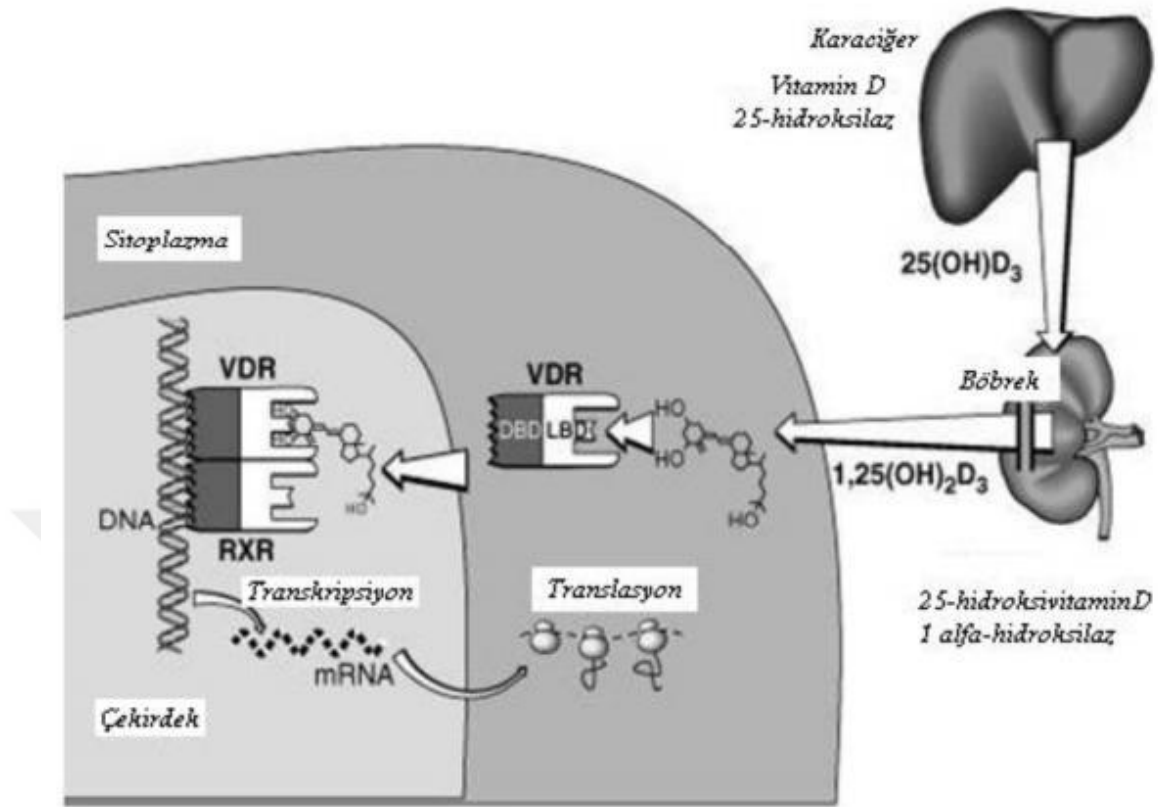
Endocrine Society klinik uygulama kılavuzunda $25(\text{OH})\text{D}$ düzeyinin 20 ng/mL ve altında olması vitamin D eksikliği, 21-29 ng/mL arasında olması ise yetersiz vitamin D düzeyi olarak tanımlanmıştır (Holick, 2011). Uluslararası Osteoporoz Vakfı ise $25(\text{OH})\text{D}$ düzeyinin 10 ng/mL altında olmasını vitamin D eksikliği, 20 ng/mL altında olmasını ise yetersiz vitamin D düzeyi olarak tanımlayarak; parathormonu aktive etmeyecek en düşük hedef değerin ≥ 30 ng/mL olması gerektiğini belirtmiştir. >150 ng/ml ise toksik değer olarak kabul edilmiştir. (Dawson, 2004).

D vitamini lipofilik olduğundan, karaciğer ve adipoz dokuda depolanır ve D vitamini alımında eksiklik veya yokluk durumunda 6 aya kadar vücudun ihtiyacını karşılayabilir (Kurt, 2011).

2.4.3. Vitamin D Reseptörü ve Etki Mekanizması

Vitamin D'nin hücre üzerindeki etkisi aktif D vitamini olan kalsitriolün reseptör etkileşimi ile meydana gelmektedir. Bu etkileşim, steroid hormonları ve tiroit hormonlarının da kullandığı gibi direkt çekirdekte bulunan VDR üzerinden gen transkripsiyonunu düzenleyerek (genomik etki) ya da direkt hücre zarındaki VDR üzerinden (genomik olmayan etki) oluşmaktadır. Genomik olmayan etki çok kısa sürede gerçekleşirken, genomik etki için daha uzun süre gerekmektedir (Holick, 2010).

Aktif vitamin D hedef hücre membranını geçtikten sonra her reseptörde aktif vitamin D'nin bağlandığı bir ligand bağlayıcı bölge ve reseptörün DNA'ya bağlanmasını sağlayan iki adet parmak gibi çıkıntı yapan bölge ve bunları kararlı halde tutan birer çinko atomu bulunmaktadır. Hücre çekirdeğinde gerçekleşen genomik yolda DBP'lerle dokulara taşınan $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ hücre içine girerek VDR ile birleşir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -VDR kompleksi hücre çekirdeğinde retinoik asit X reseptörü (RXR) ile birleşir ve heterodimerik bir yapı oluşur (Şekil 9). VDR-RXR bileşiğinden oluşan bu heterodimerik yapı deoksiribonükleik asit (DNA) üzerinde bulunan, vitamin D yanıt elementleri (VDRE) olarak bilinen yere bağlanır.



Şekil 2.9. Vitamin D ve transkripsiyon (Değişli, 2010)

Bu bağlanmanın sonucu olarak, bağırsaklarda Ca kanallarının ve Ca bağlayıcı proteinlerin (kalbindin) sentezi yapılmakta ve Ca Emilimi düzenli şekilde gerçekleşebilmektedir. Bu üçlü kompleks yapı bazı genlerin (osteokalsin, kalsiyum bağlayan protein, 24-hidroksilaz) transkripte olmasına yol açarken bazı genlerin ise (enflamatuar genler, IL-2, IL-12) transkripsiyonunu azaltır (Adams ve Hollis 2002; Dursun 2007; Bringhurst ve ark., 2008). Bu yolla vitamin D'nin 200'den fazla geni kontrolü altında tutarak apoptoz, anjiyogenez, diferensiyasyon, proliferasyon, DNA onarımı, oksidatif stres gibi hücredeki birçok genomik olayda görev aldığı bilinmektedir (Değişli, 2010).

Vitamin D'nin non-genomik etkisi ise plazma membranındaki VDR reseptörlerine bağlanarak dakikalar içinde meydana gelir. Bu yolla sitoplazma içerisinde geçici olan iyonların (kalsiyum, klor) transmembran geçişini değiştirerek veya siklik adenosin monofosfat (cAMP), protein kinaz A (PKA), fosfolipaz C (PLC), fosfoinozitol-3 kinaz (PI-3 kinaz) ve "mitojen-aktivite" protein kinaz (MAP kinaz) gibi ikincil haber yollarını aktive ederek etki oluşturur (Bringhurst ve ark., 2008; Christakos ve ark., 2010). Bu yolak ile hücre membranındaki kalsiyum kanalları aktifleşir. En aktif olduğu

bölgeler pankreas beta hücreleri, düz kaslar, kalp kası hücreleri, barsak hücreleri ve monositlerdir (Miyamoto ve ark., 1997).

2.4.4. Vitamin D'nin Vücuttaki Sistemler Üzerine Etkileri ve Hastalıklarla İlişkisi

Vitamin D metabolizmasının yer aldığı esas organlar; bağırsaklar, böbrekler ve kemik dokusudur. Bununla beraber vücuttaki birçok hücrede (beyin, kalp, mide, pankreas, deri, meme, gonadlar, T ve B lenfositleri, monositler vs.) VDR vardır. Vitamin D hem kalsiyum metabolizması hem de iskelet sistemi dışındaki diğer etkilerini VDR aracılığı ile gerçekleştirir. Bununla birlikte 25(OH)D'nin böbrek dışı dokularda 1- α hidroksilaz enzimi vasıtasıyla 1,25(OH)₂D'ye dönüşebildiği bulunmuştur. Elde edilen bu bilgiler, vitamin D'nin parakrin ve otokrin düzenleyici özelliklerinin olduğunu göstermektedir (Dursun, 2007). Ayrıca direkt ya da indirekt olarak 1,25(OH)₂D, hücre de proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozis düzenlemesinde fonksiyonu olan genleri direkt ya da indirekt yoldan kontrol eder (Değişli, 2010).

2.4.4.1. Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri

Aktif vitamin D'nin temel görevi bağırsaklardan kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) Emilimini sağlayarak parathormon (PTH) ile birlikte organizmanın kalsiyum/fosfor dengesini sağlamaktır (Holick, 2007).

Vitamin D yokluğunda diyetle alınan kalsiyumun sadece %10-15'i, fosforun ise %60'ı emilmektedir. Aktif vitamin D, VDR ile etkileşimiyle kalsiyum Emilimi %30-40'a, fosfor Emilimi %80'e çıkmaktadır (Heaney ve ark., 2003). Plazmada kalsiyum seviyesinde ki azalma paratiroid bezinde bulunan kalsiyuma duyarlı proteinler tarafından algılanır ve PTH salgılanır. Parathormon proksimal tübül hücrelerinde 1 alfa hidroksilaz düzeyini attırır ve 1.25 (OH)₂D üretimi artar. D vitamini intestinal kalsiyum Emilimini arttıran tek hormondur. İntestinal fosfor Emilimini de arttırır. İntestinal yolla kalsiyum alınmazsa bile D vitamini kemikte osteoblastları uyarır ve onların reseptör aktive edici nükleer faktör-kappa-b ligand üretimini arttırır (RANKL). RANKL osteoklastogenezisi uyarır ve osteoklastların kemik rezorbsiyonu etkilerini aktive eder. D vitamini, parathormon ile birlikte böbrek distal renal tübül hücrelerinde kalsiyum Emilimini arttırır. Parathormon renal proksimal ve distal tübül hücrelerinde fosfor atılımını arttırırken, D vitamini fosfor Emilimini arttırır (Suda ve ark., 2002).

Vücutta kalsiyum dengesi çok önemli olduğundan PTH ve aktif vitamin D birlikte kemiklerden kalsiyumu mobilize ederek serum kalsiyum düzeyini normal sınırlarda tutmaya çalışmaktadır. PTH artışına yol açan vitamin D eksikliği çocuklarda raşitizme, erişkinlerde ise osteomalaziye yol açmaktadır (Holick, 2007). Bu durumda organizmanın kalsiyum dengesi bağırsaktan emilim yerine kemiklerden kalsiyum mobilizasyonu ile sağlanır (Henderson 2005; Morrison ve ark., 2004). Osteoklastlar kemikte mineralize kollajen matriksi çözündürerek, osteopeni ve osteoporoza neden olur ve kırık oluşma riskini artırır (Gross ve ark., 1998). Sonuç olarak, normal seviyedeki serum 25(OH)D, yeterli kalsiyum emilimi ile birlikte PTH artışına neden olmayacak düzeyde tutulduğunda kemik mineral yapısı korunmuş olur.

2.4.4.2. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmalarda aktif T ve B hücreleri, makrofajlar, dentritik hücreler gibi immün sistem hücrelerinde de VDR ve 1 α hidroksilazın bulunması vitamin D'nin immün regülasyondaki önemini giderek arttırmaktadır (Dimoloe ve ark., 2010).

Vitamin D'nin; hem doğal, hem edinsel immün sistemin düzenlenmesinde rolü olduğu saptanmıştır. D vitamini, immün sistemde yer alan hücreleri direkt ya da dolaylı yoldan etkileyerek onların immün yanıtını düzenler. Vitamin D'nin doğal bağışıklık üzerine etkisi hem antimikrobiyal işlevleri destekleyerek hem de enflamatuvar aktiviteyi inhibe ederek olur. İnsan monositlerinin kalsitriol ile tedavisi, toll-like reseptörlerden (TLR) TLR2 ve TLR4'ün ekspresyonunu inhibe eder (Koofler ve ark., 1985).

Çeşitli çalışmalarda D vitamini eksikliğinin otoimmün hastalık riskini arttırdığı saptanmıştır. D vitamini immün sistemde bulunan hücrelerin çoğunluğunu etkilemektedir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliği ile Tip 1 diyabet, multipl skleroz ve inflamatuvar bağırsak hastalığı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (Del Pinto ve ark., 2015; Munger ve ark., 2006).

2.4.4.3. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

Doğum öncesinde ve çocukluk döneminde yeterli vitamin D düzeyinin sağlanmasının beyin gelişimi ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde normal zihin işlevlerinin devamı için gerekli olduğu saptanmıştır (Eyles ve ark., 2005).

Vitamin D'nin nöronal kalsiyumu düzenlemesi, immün modülasyon, antioksidatif mekanizma, sinir iletimi ve detoksifikasyon mekanizmalarını arttırması, in vivo

çalışmalarda saptanan beyin üzerine olan nöroprotektif etkiyi açıklamaktadır (Özkan ve Döneray, 2011). Yaşlılarda vitamin D eksikliği ile Alzheimer hastalığı, çocuklarda ise otizm arasında ilişki olduğu klinik araştırmalarda saptanmıştır (Mc Grath ve ark., 2003; Hoogendjik ve ark., 2008).

2.4.4.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Yapılmış deneysel çalışmalar vasıtasıyla vitamin D reseptörlerinin kardiyovasküler sistem ile bağlantılı hücrelerin neredeyse hepsinde ekspresyonu saptanmış ve vitamin D eksikliğinin endotel disfonksiyon, ateroskleroz, miyokard kontraktilitesinin bozulması ve ventriküler hipertrofi gibi birçok kardiyovasküler patoloji ile ilgisi olduğu ileri sürülmüştür (Norman ve Powell, 2004).

2.4.4.5. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri

Vitamin D'nin immünmodulator özelliği sayesinde astım ve solunum sistemi ile ilgili diğer hastalıklarda önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Misra ve ark., 2008; Ginde ve ark., 2009). Astım kontrolü açısından yapılan bir araştırmada; düşük vitamin D düzeyi ile astım atağı nedeniyle acil servise başvuru ve sık hastaneye yatış arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır (Brehm ve ark., 2010).

2.4.4.6. Kanser Üzerine Etkileri

Son yıllarda yapılan araştırmalar vitamin D ve analoglarının kanser patogenezi, insidansı ve mortalitesi ile ilişkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Hem prospektif hem de retrospektif epidemiyolojik çalışmalar 20 ng/mL'nin altındaki 25(OH)D düzeylerinin kolon, prostat ve meme kanseri riskinde %30-50 artış ve bu kanserlere bağlı yüksek mortalite ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Garland ve ark., 2006). Vitamin D, kanser üzerine koruyucu etkilerini tümörün yayılımını kolaylaştıran telomeraz ekspresyonu, apoptozis ve anjiyogenez inhibisyonuna neden olarak gerçekleştirir (Richard ve ark., 2007; Garland ve ark., 2007).

2.4.4.7. Ağrı Üzerine Etkileri

Ağrı patofizyolojisi belirsiz olmasına rağmen, vitamin D eksikliği ağrıya yol açabilir. Son yıllarda vitamin D ve ağrı ilişkisine yönelik çok sayıda çalışmalar yapılmıştır ve vitamin D eksikliği baş ağrısı, karın, diz ve sırt ağrısı, kalıcı kas-iskelet ağrısı, kostokondrit göğüs ağrısı ve fibromiyalji ile ilişkilendirilmiştir (Plotnikoff ve Quigley,

2003; Lotfi ve ark., 2007; Saps ve ark., 2008, Mistikostas ve ark., 1996; Zeng ve ark., 2004; Glerup ve ark., 2004; Arvold, 2009; Oh ve Johnson, 2012; Waikakul, 2012).

Başka bir araştırmada vitamin D'nin tip 2 diabette nöropatik ağrının tedavisine katkıda bulunabileceği ve nöropatik ağrı için analjezik etki sağlayacağı öne sürülmüştür (Lee ve Chen, 2008).

Yapılan bir araştırmada spesifik olmayan kemik ağrısı ile vitamin D eksikliği arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Heidari ve ark., 2010). Kesitsel bulgular değerlendirildiğinde kronik yaygın ağrısı olan erkekler, ağrısı olmayanlarla karşılaştırıldığında daha düşük 25(OH)D düzeyine sahiptir (McBeth ve ark., 2010). Araştırmalar, vitamin D'nin kronik ağrı gelişimi ve modülasyonuna karşı koruyucu olduğu düşünülen çeşitli hücrel aktivitelere hayati bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Vitamin D'nin nöroaktif bir steroid görevi gördüğü, nörotrofinlerin oluşumuna ve rolüne müdahale ettiği, prostaglandin hareketini etkilediği, enflamatuar yolları etkilediği, nitrik oksit sentaz ve yardımcı T hücrelerini inhibe ettiği bulunmuştur (Shipton ve Shipton, 2015; Rosen ve ark., 2012).

Orak hücreli anemili çocuklarda yapılan bir araştırmada yüksek orandaki vitamin D eksikliğinin akut ağrı ile ilişkisi vurgulanmıştır (Lee ve ark., 2015). Başka bir çalışmada kronik vitamin D uygulamalarının, sıçanlarda nöropatik ağrının davranışsal puanlarını azaltabildiğini göstermiştir (Banfshe ve ark., 2019).

Giderek artan araştırmalara rağmen, vitamin D veya vitamin D takviyesinin kronik ağrıyı nasıl önlediği veya iyileştirdiği konusunda kesin bir kanı yoktur. Fakat ortaya çıkan veriler, vitamin D / VDR'nin anahtar ağrı genlerini modüle ederek ağrı algılamada rol oynadığını göstermektedir.

Bununla birlikte, vitamin D'nin muhtemelen ağrı sinyal yollarını etkilediği hipotezi biyolojik olarak kabul edilebilir çünkü vitamin D ve / veya VDR gen ekspresyonu, deri (ağrı sinyali iletimi), dorsal kök gangliyonları (iletim), omurilik (iletim / modülasyon) ve beyin (ağrı algısı) dokularında gösterilmiştir (Habib ve ark., 2020). Ayrıca ağrı algılama ve işlemede rol oynayan periferik ve merkezi nöronlarda da vitamin D reseptör ekspresyonu bildirilmiştir. Deride sentezlenen vitaminin D'nin ciltteki nosiseptif nöron sinir uçları ile etkileşime girerek zararlı proinflamatuar uyaranları doğrudan algıladığı

(Cohen ve ark., 2019) ve ayrıca T hücrelerindeki TRPV1 kanal aktivitesini kontrol ettiği düşünülmektedir (Bertin ve ark., 2014; Long, 2019).

Kronik ağrı hastalarında vitamin D eksikliğinin yaygınlığı göz önüne alındığında, vitamin D takviyesi çok sayıda fayda sağlayabilir. Bununla birlikte, şu anda kronik ağrıda mevcut kanıt eksikliğinin ışığında, vitamin D takviyesi, etkili ve bağımsız bir tedavi olarak kabul edilemez. Ancak genel olarak düşük bir sağlık riski oluşturduğundan ve ucuz olmasından dolayı kronik ağrı hastaları arasında vitamin D takviyesi yaygındır (Starube ve ark., 2015; Kragstrup, 2011).

2.4.4.8. Opioidler Üzerine Etkileri

Opioid bağımlılığı son zamanlarda üzücü krizlere ve hastalarda olumsuz yan etkilere sebep olmasına rağmen, orta ve şiddetli ağrı tedavisinde en yaygın kullanılan ve vazgeçilmez analjezikler içinde opioidler yer almaktadır. Şu anda, başka hiçbir oral terapötik ilaç şiddetli ağrının kısa sürede ve etkili bir şekilde giderilmesini sağlamamaktadır (Szigethy ve ark., 2018; Chen ve ark., 2019).

Sıçanlarda, vitamin D'den eksik diyet, opioidin analjezik etkisini azaltırken, kolekalsiferol uygulamasından sonra morfinin analjezik etkisi artmıştır (Bazzani ve ark., 1984). Bununla birlikte, bu takviyenin, G protein alt birimlerinin (G α) transkripsiyon seviyelerini ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarının (Cav2) alt birimleri gibi efektörleri ve adenilat siklaz tip 5 (AC5) enzimlerinin yanı sıra opioid sinyal reseptörlerinde yer alan diğer birçok geni de etkilediği gösterilmiştir.

AC5 geninin aşağı regülasyonunu indüklemesi ile cAMP yolu üzerinden opioidlerin analjezik etkileri üzerinde D vitamininin potansiyel bir etki sağlayabileceği gösterilmiştir (Poisbeau ve ark., 2009).

Düşük serum vitamin D seviyeleri, opioid yan etkilerinin ve bağımlılığının gelişmesiyle ilişkilendirilmiştir. Metadon idame tedavisi (MMT) alan opioide bağımlı hastalar arasında yarısından fazlasında düşük vitamin D saptanmıştır (Kim ve ark., 2009). Bu durum, ilaca bağımlı popülasyonlarda kronik ağrı prevalansının yüksek olması nedeniyle dikkat çekmiştir (Larson ve ark., 2007; Rosenblum ve ark., 2003).

Ayrıca, steroidler, antiepileptik ilaçlar ve antikonvülsanlar gibi kronik ağrıyı tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bazı ilaçlarla uzun süreli tedavi vitamin D

seviyelerini düşürebilmektedir (Misra ve ark., 2010; Pascussi ve ark., 2005; Zhou, 2006). Bu nedenle, hastanın tıbbi durumu, mevcut ilaçlar ve cildin güneş ışığına maruz kalması açısından düzeyleri eksik veya yetersiz olduğunda vitamin D takviyesi önermek uygun olabilir.

Son zamanlarda MMT programına giren hastalarda ayrıca vitamin D takviyesinin bilişsel işlevleri ve zihinsel sağlığı da iyileştirdiği gösterilmiştir (Ghaderi, 2020).

Opioid reseptörlerinin sürekli aktivasyonunun, fiziksel bağımlılığın (Cao ve ark., 2010; Han, 2006; Yang, 2013) ve opioidlere toleransın (Nagi, 2011; He ve Whistler, 2007; Nagi K, 2014; Shy ve ark., 2008; Wang ve Gintzler, 1995) gelişmesine yol açan anahtar mekanizmalardan biri olan adenilat siklaz (AC) süperaktivasyonu olarak adlandırılan cAMP üretimini artıran (Christie, 2008) telafi edici mekanizmalarla sonuçlandığı bilinmektedir. Bununla birlikte, kolekalsiferol desteğinin AC5 gen ekspresyonunu düzensizleştirdiği gösterildiğinden (Poisbeau, 2019), AC süperaktivasyon mekanizmasını etkileyerek opioid bağımlılığı ve toleransının gelişimini modüle etmede kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu korelasyon, opioid analjeziklere tolerans gelişimini hızlandırmada D vitamini eksikliğinin rol oynadığını göstererek, kısmen kanıtlanmıştır (Bazzani, 1984). Bu çalışmada, vitamin D eksikliği olan raşitojenik diyetle 3-4 hafta yetiştirilen sıçanlarda, morfine karşı toleransın kontrol sıçanlarına göre daha hızlı geliştiği, bu durumun kolekalsiferol tedavisi ile engellendiği gösterilmiştir.

İnsan deneklerde D vitamini seviyeleri ile opioid kullanımı arasındaki ilişki de araştırılmıştır. Gözlemsel bir çalışmada, 25-OHD seviyeleri <50 nmol / L olan palyatif kanser hastaları, 50 nmol / L'nin üzerinde 25-OHD seviyelerine sahip olanlara kıyasla ağrı giderimi için daha yüksek opioid (fentanil) dozuna ihtiyaç duymuştur (Bergman ve ark., 2015).

Bir takip çalışmasında, 25-OHD düzeyleri <75 nmol / L olan palyatif kanser hastalarına günlük 4.000 IU dozunda D vitamini verilmiştir. 1 aylık takviyeden sonra, tedavi edilmeyen kontrollere kıyasla fentanil dozlarında bir azalma saptanmıştır (Helde ve ark., 2017). Bu çalışmalar, düşük vitamin D seviyeleri ile artan opioid tüketimi arasında önemli bir korelasyonu tanımlamaktadır.

Vitamin D'nin kronik ağrılı hastalarda klinik fayda sağladığını gösteren çalışmalarla birlikte (Brady ve ark., 2019; Sari ve ark., 2020), yapılmış bazı sistematik incelemeler,

hastaların kronik ağrıda vitamin D kullanımından fayda sağladığını kesin olarak göstermemektedir (Straube ve ark., 2015; Manson ve Bassuk, 2015).

Yapılan başka bir çalışmada da vitamin D uygulamasının primer hipokampal nöronlarda bir NOS türü olan indüklenebilir nitrik oksit sentazı (iNOS) düşürdüğü gösterilmiştir (Dursun, 2014). Bu durum morfin toleransı gelişiminde rol alan nitrik oksit birikimini vitamin D'nin engelleyerek toleransı yavaşlatabileceğini düşündürmüştür.

Ancak başka bir çalışmada vitamin D'nin doza bağımlı olarak endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) üretimini arttırdığı saptanmıştır (Molinari, 2011). Özellikle ağrı modellerinde bu potansiyel etkileşimleri incelemek ve araştırmalar arasındaki korelasyonu arttırmak için in vitro ve in vivo daha fazla deneysel çalışma gereklidir. Bu tür çalışmalar, kronik ağrıyı daha iyi tedavi etmek için D vitamininin tek başına veya mevcut analjeziklerle kombinasyon halinde potansiyel faydasını vurgulayabilir.

2.5. EB 1089 (Seokalsitol)

EB 1089 (seokalsitol), hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe etmede kalsitriolden 50-200 kat daha güçlü sentetik bir vitamin D analogudur, ancak kalsitriole göre azalmış kalsemik aktivite gösterir (Hansen ve ark., 2000).

Apoptozu indükleyerek in vitro tümör gerilemesini destekler (James ve ark., 1998). Seokalsitolun uzun süreli intraperitoneal (i.p) uygulaması, hepatosellüler karsinom (HCC) gelişimi üzerinde çok güçlü bir inhibitör etki gösterir (Ghous ve ark., 2008).

Ayrıca EB1089'un meme kanseri modelleri (Flanagan ve ark., 2003; Sundaram ve ark., 2003), baş ve boyun skuamöz kanserleri (Prudencio, 2001), yumurtalık kanseri (Kasiappan ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2005), pankreas kanseri (Li ve ark., 2015) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi olgularda tümör büyümesini bloke ettiği bulunmuştur.

2.6. Serotonin

Serotonin (5-Hidroksitriptamin; 5-HT) triptofan aminoasidinin hidroksilasyon ve dekarboksilasyonuyla meydana gelir (Köylü H, 2018). 5-HT, Maurice Rapport ve Irvine Page tarafından 1948 yılında izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Rapport ve ark., 1948). Serotonin trombositlerde ve sindirim kanalında (enterokromafin hücreler ve miyenterik pleksusta) yüksek konsantrasyonda bulunur. Ayrıca beyin sapındaki rafe nükleusundan

kaynaklanan ve medulla spinalis arka boynuzu, hipotalamus, limbik sistem ve serebelluma uzanan liflerden salgılanır. Serotonin inhibitör etkilidir, medulla spinaliste ağrı yollarını baskılar (Köylü, 2018).

Ağrının inhibisyonunda; rafe magnus, rostroventral medulla, nukleus paragigantoselularis (nPGi) ve nPGi ventral kısımlarından inen serotonerjik nöronlar, nosiseptif sinyali ileten spinal kordun dorsal boynuz laminası ikinci sıra nöronlarda projekte olur.

Spinal korda projekte olan serotonerjik nöronların alt tipleri, birkaç nöropeptit (P maddesi, somatostatin, enkefalin, tiroksin salgılatıcı peptit), inhibitör (GABA) ve eksitator (glutamat) amino asit nörotransmitterler ile birlikte bulunur ve birlikte salınır (Nakamura ve ark., 2004).

Aynı zamanda beyindeki inhibitör etkisinin kişinin emosyonel durumunu kontrol ettiği ve uykuya yol açtığı düşünülür. Şimdiye kadar yedi serotonin reseptörü tanımlanmıştır (5-HT₁ – 5-HT₇). Bunların da kendi içerisinde alt tipleri tanımlanmıştır. Bunlardan 5-HT_{2A} reseptörleri trombosit agregasyonu ve düz kas kasılmasına aracılık eder. 5-HT₆ reseptörlerinin antidepresan ilaçlara ilgisi yüksektir (Köylü, 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Laboratuvar Şartları

Çalışma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmış (Etik Kurul Tarih- Karar No: 18.01.2019- 19/003) ve çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde Etik Kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda 3 aylık ortalama 240-260 gr ağırlığında 96 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlardan 24 adeti etkin dozu saptamak için ön çalışmada, 72 adeti ise doz belirlendikten sonra deney grupları için kullanılmıştır.

Deneylerde, sıçanlar 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, iyi havalandırılmış, ısı ve nemi standardize edilmiş (22 ± 3 °C sıcaklık, % 62 ± 7 nem oranı) odalarda, her bir kafeste dört hayvan olacak şekilde ayrılarak plastik kafeslerde barındırılmıştır. Deney sürecinde hayvanlar, ticari sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiş olup, hayvanlara deney sürecinde yem ya da su kısıtlaması yapılmamıştır. Deneyler 10.00-14.00 saatleri arasında yapılmıştır.

3.2. Çalışma Düzeni

Deneyimizde ön çalışmalardan sonra hayvanlar rastgele seçilerek aşağıda gösterilen şekilde 9 gruba ayrılmıştır (Tablo 3.1)

Tablo 3.1. Gruplar ve uygulanan maddeler

Gruplar/ Uygulanan Maddeler	Sayı (n)	Doz	Veriliş yolu
Grup I: Kontrol (Serum Fizyolojik)	8	1ml/kg/gün	i.p.
Grup II: Morfin	8	5mg/kg/gün	i.p.
Grup III: Morfin + Vit D*	8	5 mg/kg/gün morfin+ 10 µg/kg/gün Vit D	i.p.
Grup IV: Vit D	8	10 µg/kg/gün	i.p.
Grup V: Morfin + EB1089**	8	5 mg/kg/gün morfin + 10 µg/kg/gün EB1089	i.p.
Grup VI: EB1089	8	10 µg/kg/gün EB1089	i.p.
Grup VII: Morfin Tolerans	8	10 mg/kg (2x1 gün)	i.p.
Grup VIII: Morfin Tolerans + Vit D	8	10 mg/kg (2x1 gün) morfin + 10 µg/kg/gün Vit D	i.p.
Grup IX: Morfin Tolerans + EB1089	8	10 mg/kg (2x1 gün) morfin + 10 µg/kg/gün EB1089	i.p.

* Morfin dozundan 20 dakika önce grup III'e vitamin D (10 µg/kg) uygulandı.

** Morfin dozundan 20 dakika önce grup V'e EB1089 (10 µg/kg) uygulandı.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 1α, 25- Dihidroksivitamin D3 (Santa Cruz Biotechnology), 1mg

- EB1089 (Santa Cruz Biotechnology), 1mg

- Morfin HCL 10mg/ml

- ST/5-HT (Serotonin/5-Hydroxytryptamine) ELISA Kit (Elabscience®)

1α, 25- Dihidroksivitamin D3 ve EB1089 etanol içerisinde çözülerek intraperitoneal olarak uygulandı. Deneyde kullanılan kimyasal maddelerin etkin dozlarını belirlemek

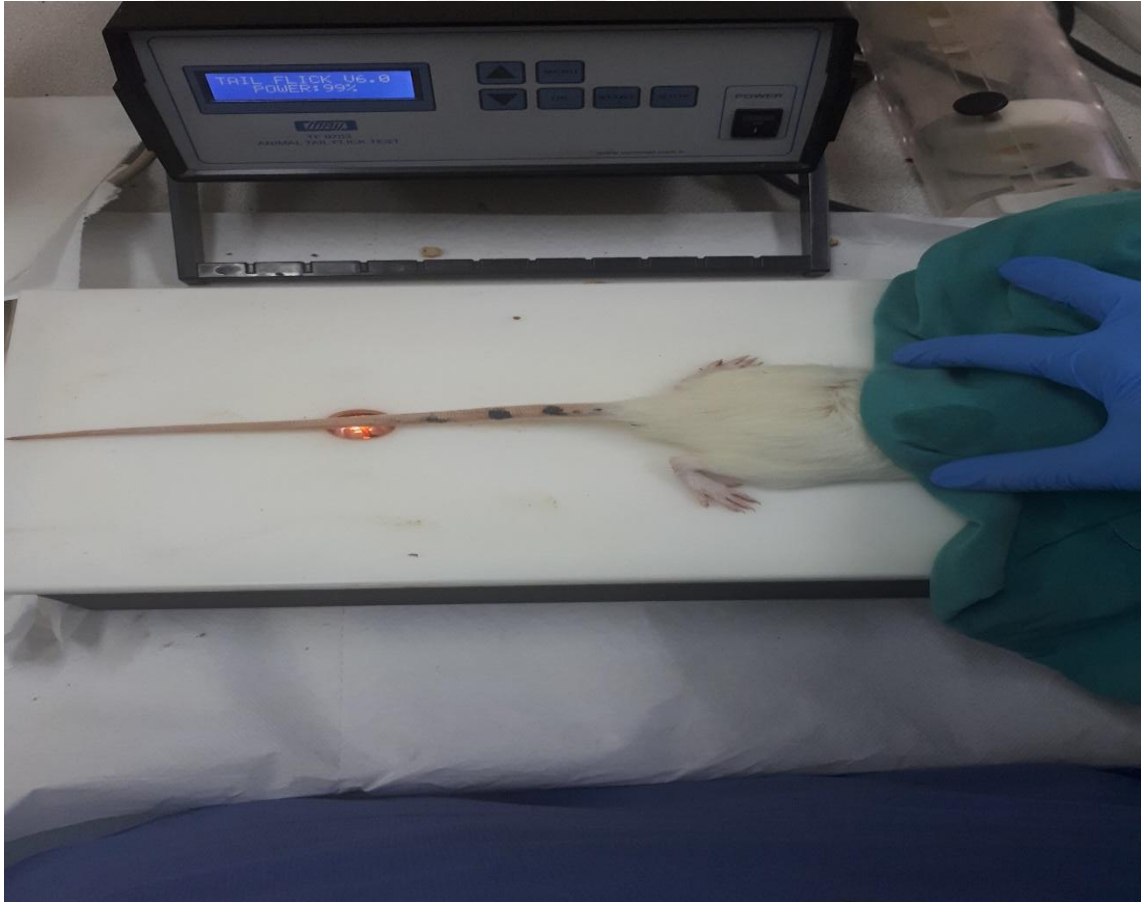
için öncesinde pilot çalışmalar yapılmıştır. Ancak morfinin antinosiseptif etki dozu daha önceki çalışmalar referans alınarak 5mg/kg uygulanmıştır (Altun ve ark, 2015).

3.4. Akut Analjezi Değerlendirmesi

3.4.1. Tail Flick Testi

Bu test termal uyararla oluşturulmuş ağrıya hayvanın verdiği yanıtı ölçmektedir. Sıçanın kuyruğu bir lambadan gelen ve şiddeti ayarlanabilir odaklanmış ışığa yerleştirildi ve stimülasyonun başlaması ile kuyruk çekilmesi arasındaki zaman kuyruk çekme süresi (Tail Flick Latency= TFL) olarak kaydedildi (Şekil 3.1).

İlaç uygulamasından bir gün önce kayıt alınmaksızın tüm sıçanlar, öğrenme alıştırmaları yapmak amacıyla tail- flick cihazına (May TF 0703 Tail Flick Unit Commat, Ankara,Türkiye) yerleştirildi. Bütün hayvanların ilaç uygulamalarından önce 0. dakikadaki ölçümleri ve daha sonra ilaç uygulamalarından sonra 30, 60 ve 90. dakikalardaki ölçümleri kuyruk çekme süresi saniye cinsinden kaydedildi.



Şekil 3.1. Tail flick cihazı ve kuyruk çekme testinin uygulanışı

Test esnasında deney hayvanlarının kuyruklarında önemli, kalıcı bir hasar meydana gelmemesi için test kesme süresi (cut- off latency) 15 saniye olarak belirlendi.

3.4.2. Hot Plate Testi

Ağrı eşiğinin değerlendirilmesinde bir diğer termal uyaraaala ağrı oluşturma testi olan hot plate testi kullanıldı. Deneyde 52°C'ye kadar ısıtılmış metal yüzeye denekler bırakıldı. Deneklerin ısıtılmış yüzeyde belli bir alan etrafında kalması için hareket kabiliyetini sınırlamayacak büyüklükte ısıya dayanıklı silindir kullanıldı. Yüzeye bırakılmasının ardından hayvanın arka ayağını yalama veya sıçrama hareketine kadar olan süre test latans süresi, ağrı eşiği olarak kabul edildi (Şekil 3.2).

İlaç uygulamasından bir gün önce kayıt alınmaksızın tüm sıçanlar, öğrenme alıştırmaları yapmak amacıyla hot-plate cihazına (May AHP 0603 Analgesic Hot Plate Commat, Ankara, Türkiye) yerleştirildi.



Şekil 3.2. Hot plate testinin uygulanışı

Doku hasarına neden olmamak için test kesme süresi 40 saniye olarak belirlendi. Bu süre sonunda ayağını çekmeyenler için test sonlandırıldı. Bütün hayvanların ilaç

uygulamalarından önce 0. dakikadaki ve daha sonra ilaç uygulamalarından sonra 30, 60 ve 90. dakikalardaki ağrı eşiği değerleri saniye cinsinden kaydedildi.

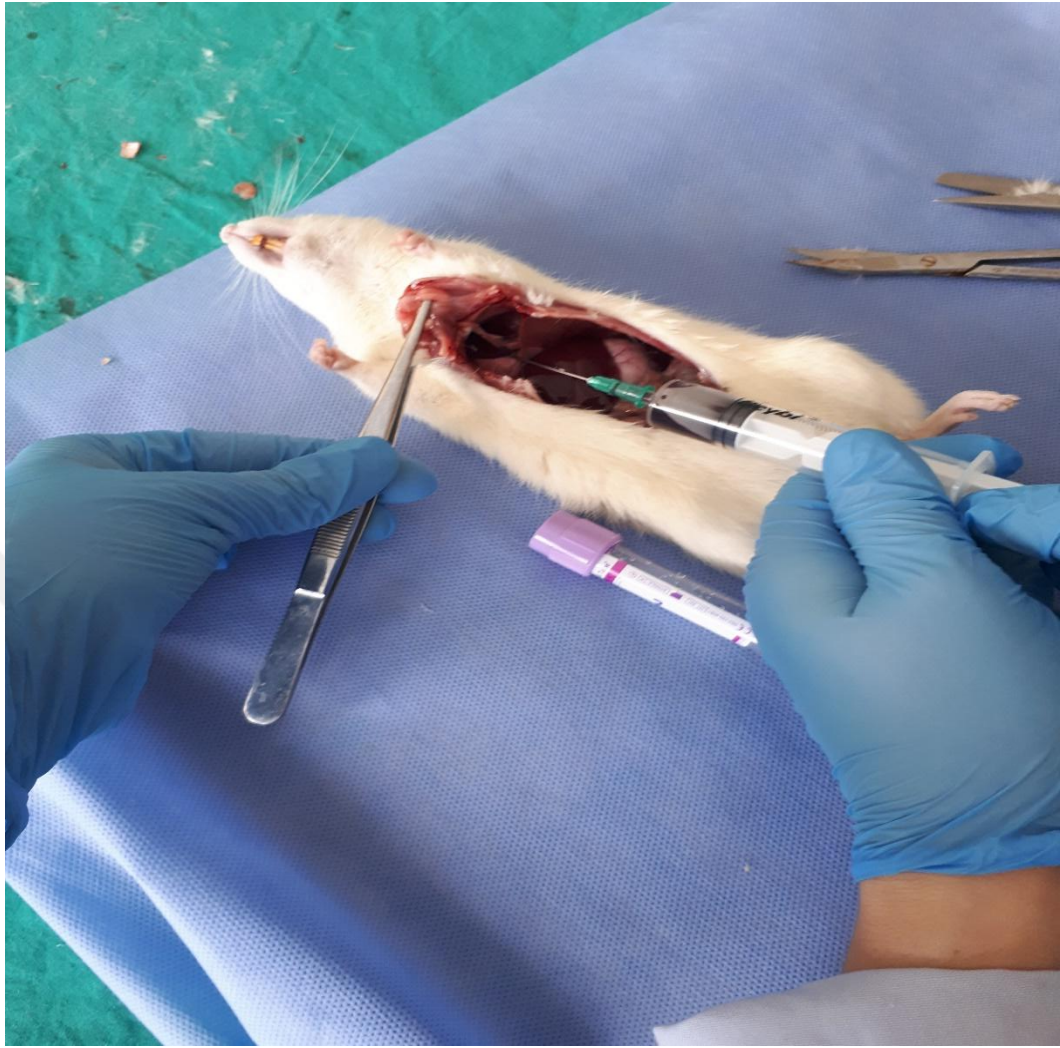
3.5. Morfin Tolerans Oluşturulması ve Oluşan Toleransa Maddelerin Etkisi

Morfin toleransı oluşturulurken daha önce yapılan çalışmalar referans alınarak morfin 5 gün boyunca günde 2 kez 10 mg/kg i.p. olarak uygulandı (Raghavendra ve Kulkarni, 2000). Altıncı gün etkin doz olan 5 mg/kg verildi ve 0-30-60-90 dk da tai-flick ve hot plate testlerine tabi tutularak ağrı eşiği değerleri ölçüldü.

Morfin toleransı üzerine etkilerini araştırmak üzere günlük morfin dozlarından 20 dakika önce grup VIII'e vitamin D (10 µg/kg) ve grup IX'a EB1089 (10 µg/kg) uygulandı ve daha sonra diğer gruplardaki gibi tail flick ve hot plate testleri uygulanarak ağrı eşiği değerleri saptandı.

3.6. Kan Analizleri

Deneyssel uygulamalar tamamlandıktan sonra, sıçanlara kan alma işleminden önce ksilazin 10 mg/kg ve ketamin 75 mg/kg i.p. uygulanarak anestezi sağlandı. İntrakardiyak enjeksiyon yöntemi ile kan örnekleri alınarak hayvanlar dekapite edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Sıçanlarda hafif anestezi altında intrakardiyak kan alınması

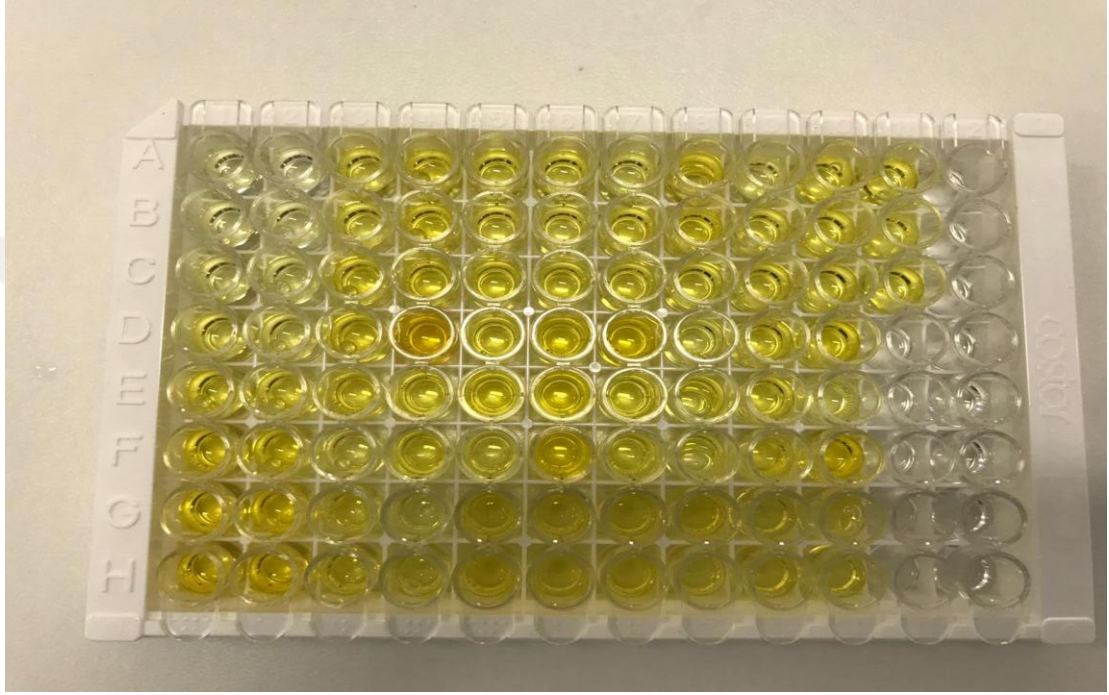
Kan numuneleri, içerisinde antikoagülan madde bulunan hemogram tüplerine konularak 2500 rpm hızda 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası bir mikropipet yardımı ile plazma kısımları ayırt edildi. Plazma kısımları eppendorf tüplere konuldu. Eppendorf tüplere konulan plazma kısımları, analizleri yapılana kadar -20 °C de saklandı.

3.6.1. Serotonin Seviyelerinin Ölçümü

Deney gruplarından alınan kan plazma örnekleri, soğuk zincir vasıtasıyla taşınarak Yozgat Bozok Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Merkezi'ne getirildi ve ELİSA testi ile serotonin tayini yapıldı.

Serotonin analizi için, Serotonin / 5-Hidroksitriptamin ELISA Kiti (E-EL-0033, 96 T) üretici firmanın önerileri ve protokolüne uygun bir şekilde; kuyucuklara 50µL plazma numuneleri eklendi ve her kuyucuğa 50µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu

eklenerek 37 ° C'de 45 dakika inkübe edildi, plakalar aspire edilerek üç kez yıkandı. 100µL HRP (Avidin-HorseradishPeroxidase) konjugat çalışma solüsyonu eklenerek 37 ° C'de 30 dakika inkübe edildi. Plakalar beş kez aspire edilerek yıkandı. 90µL substrat reaktifi eklenerek 37 ° C'de 15 dakika inkübe edildi. 50 µLstop çözeltisi eklendi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Ölçümlerin değerlendirildiği Elisa plakası

Plaka 450 nm'de Elisa okuyucu cihazında (Clariostar, BMG Labtech) okunarak plazma serotonin seviyeleri tespit edildi.

3.7. İstatiksel Analizlerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler için ‘‘IBM SPSS Statistics Version 26’’ paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılımını değerlendirmede Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılılan gruplarda ilaçların etkinliğini kontrol grubu ile kendi aralarında karşılaştırabilmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takiben gruplar arasındaki farkın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için Tukey testi (post-hoc test) kullanıldı. Varyansların homejenliğini değerlendirmede Levene testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen gruplarda tek yönlü ANOVA’nın karşılığı olan Kruskal-Wallis testi uygulandı. Gruplar arasındaki farkı bulmak için Man Witney U testinden faydalanıldı. Ağrı eşiğinin zamana göre değişimlerini karşılaştırmak için tekrarlı

ölçümlerde Repeated Measure ANOVA kullanıldı. Bütün veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Grafiklerin tamamı Jupyter Notebook Python programı kullanılarak çizildi.

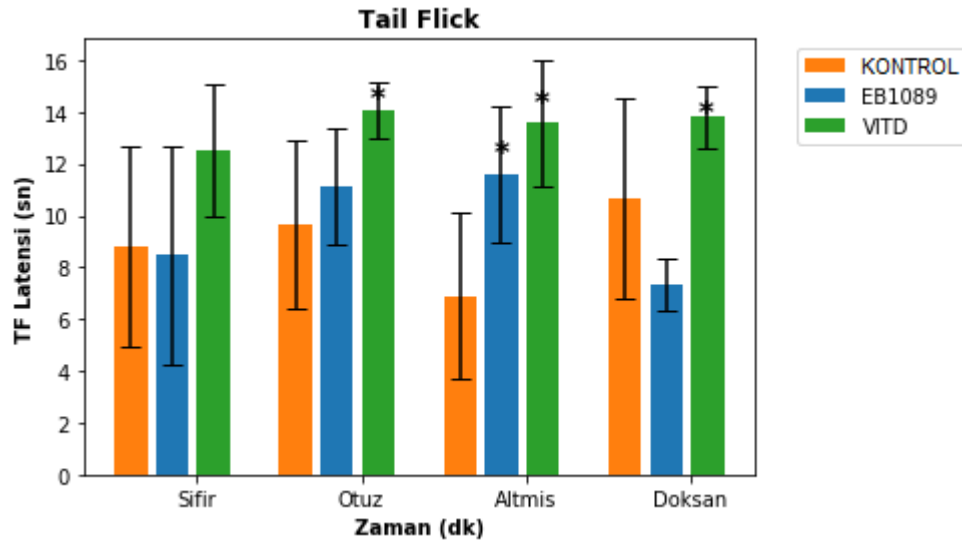


4. BULGULAR

4.1. Vitamin D ve EB1089'un Analjezik Etkileri

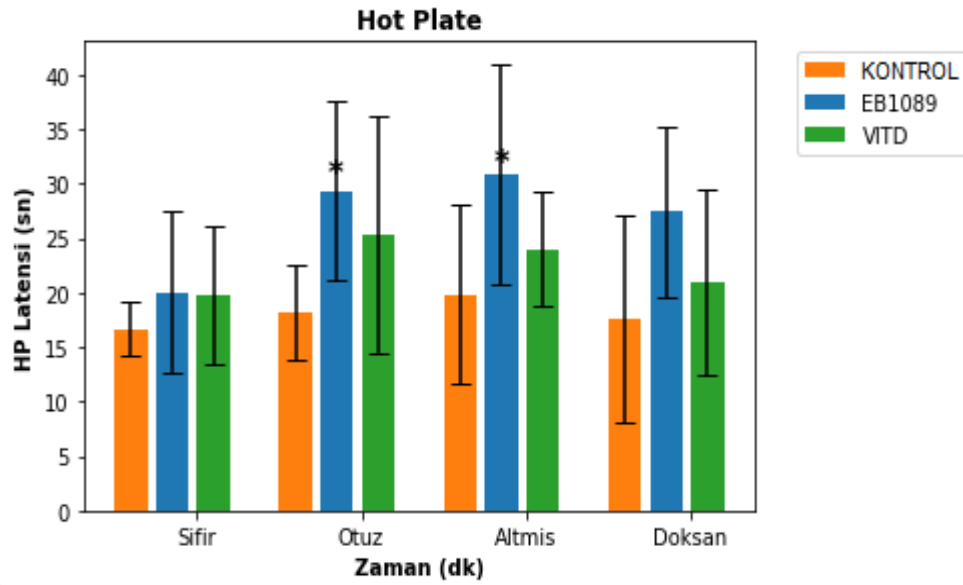
Vitamin D ve VDR agonisti olan EB1089' un analjezik etkileri kontrol grubu (TF: $10,42 \pm 2,53$, $7,77 \pm 2,71$, $10,65 \pm 3,85$) ile karşılaştırıldığında tail flick testinde vitamin D grubu 30, 60 ve 90. dakikalarda (TF: $14,02 \pm 0,89$, $13,56 \pm 2,45$, $13,80 \pm 1,17$) anlamlı fark oluştururken ($p < 0.05$), EB1089 grubunda 60. dakikada (TF: $11,60 \pm 2,65$) anlamlı fark oluşturmuştur (Şekil 4.1).

Hot plate testi istatistiksel olarak incelediğinde EB1089 grubunun 30 ve 60. dakikalarda değerleri (HP: $29,33 \pm 2,89$, $27,40 \pm 7,75$) kontrole göre (HP: $18,20 \pm 1,51$, $19,85 \pm 2,88$) anlamlı analjezik etki oluştururken ($p < 0.05$), vitamin D grubu (HP: $25,25 \pm 3,84$, $23,97 \pm 1,85$) hot plate testinde kontrol grubundan yüksek latense sahip olmasına rağmen anlamlı fark oluşturmadı ($p > 0.05$) (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un ağrı üzerine etkileri

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)



Şekil 4.2. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un ağrı üzerine etkileri

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p<0.05$)

4.2. Vitamin D ve EB1089'un Morfin Analjezisi Üzerine Etkileri

Morfinle kombine olarak uygulanan vitamin D ve EB1089'un hem kontrol grubu hem de sadece morfin verilen grupla analjezik etkinlik açısından karşılaştırılması, tail flick ve hot plate testleri ile değerlendirildi. Ayrıca sadece morfin uygulanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Tail flick testinde 60. dakikada morfin grubunda (TF: $12,55\pm0,8$) kontrol grubuna göre (TF: $7,77\pm0,9$) anlamlı düzeyde analjezi oluştu ($p<0.05$).

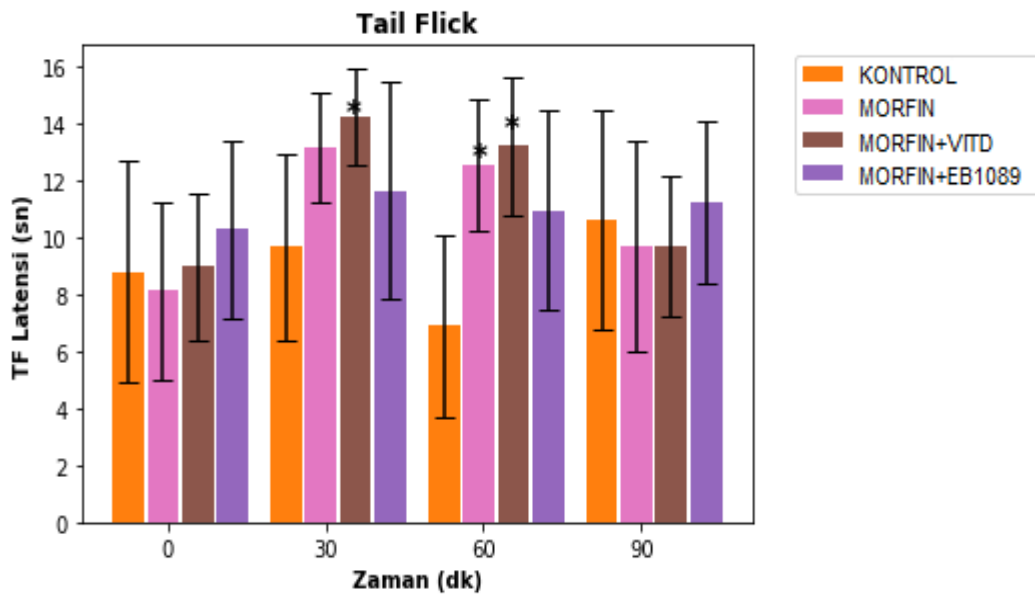
Morfinle kombine uygulanan vitamin D grubunda 30 ve 60. dakikalarda (TF: $14,26\pm0,6$, $13,23\pm0,8$) kontrol grubuna göre (TF: $10,42\pm0,8$, $7,77\pm0,9$) anlamlı fark elde edildi ($p<0.05$). Ancak morfinle kombine verilen vitamin D ve EB1089 grubu (TF: $11,67\pm1,34$, $10,97\pm1,23$) sadece morfin uygulanan gruptan yüksek latense sahip olmasına rağmen tail flick testinde anlamlı fark oluşturmadi ($p>0.05$) (Şekil 4.3).

Hot plate testinde kontrol grubu ile morfin grubunu karşılaştırdığımızda 30. dakikada morfin grubu (HP: $29,70\pm3,91$) kontrol grubuna göre (HP: $18,20\pm1,51$) anlamlı düzeyde analjezi sağladı ($p<0.05$).

Morfinle kombine uygulanan vitamin D grubunun 30. dakika değerleri (HP: $31,63\pm2,84$) kontrol grubu (HP: $18,20\pm1,51$) ile karşılaştırıldığında anlamlı analjezi

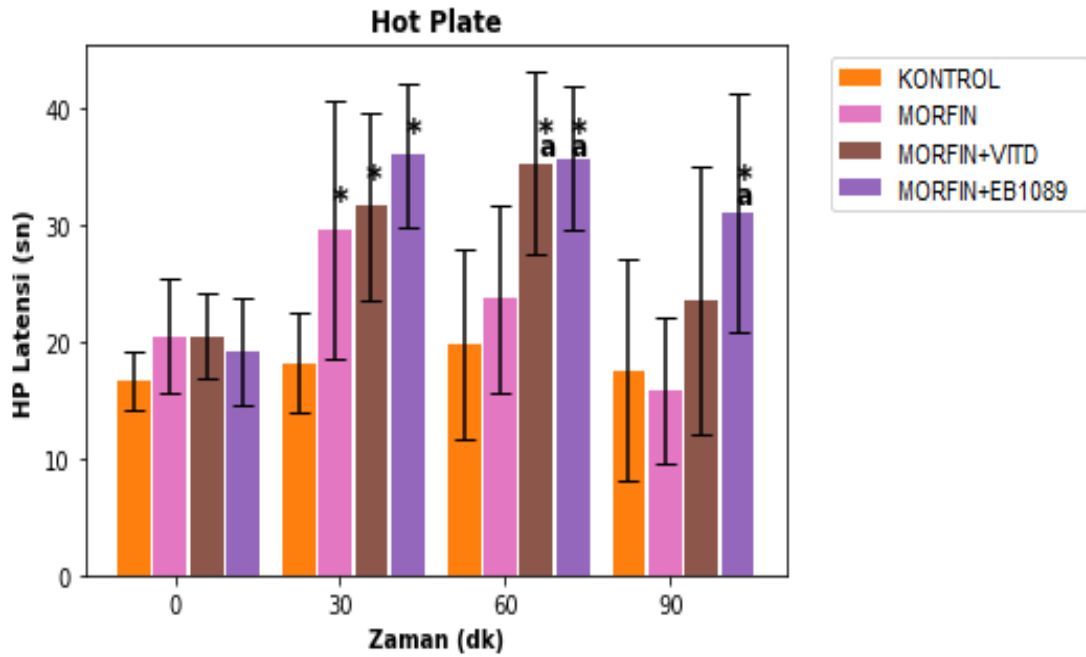
oluştururken, 60. dakikadaki değerleri (HP: $35,38 \pm 2,79$) ise hem kontrol (HP: $19,85 \pm 2,88$) hem de morfin grubuna (HP: $23,70 \pm 2,87$) göre anlamlı analjezik etki sağladı ($p < 0.05$).

Morfinle kombine uygulanan EB1089 grubunda ise 60 ve 90. dakikalarda (HP: $35,80 \pm 2,19$, $31,07 \pm 3,64$) hem kontrol (HP: $19,85 \pm 2,88$, $17,92 \pm 3,65$) hem de sadece morfin verilen gruba (HP: $23,70 \pm 2,87$, $19,42 \pm 2,01$) göre anlamlı analjezik etki elde edildi ($p < 0.05$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.3. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un morfin analjezisine etkileri

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)



Şekil 4.4. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un morfin analjezisine etkileri

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)

^a Morfin grubundan anlamlı düzeyde farklı ortalamalar ($p < 0.05$)

4.3. Vitamin D ve EB1089'un Morfin Toleransı Üzerine Etkileri

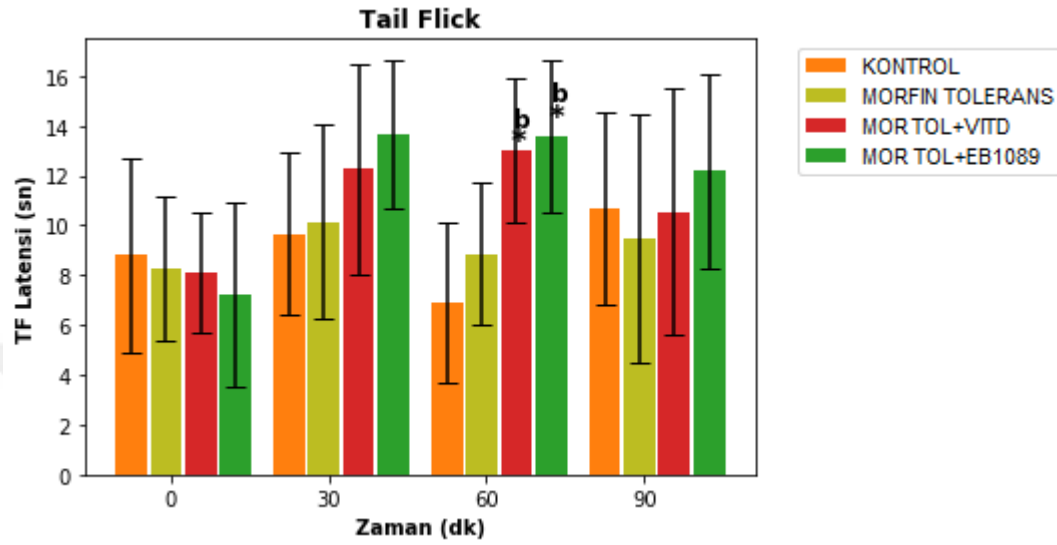
Vitamin D ve EB1089'un morfinin analjezik etkisine karşı gelişen tolerans üzerine etkilerini araştırmak için günlük morfin dozlarından önce bu kimyasallar uygulandı ve uygulamaların sonunda morfinin etkin dozu olan 5 mg/kg verilerek tail flick ve hot plate testleri değerlendirildi.

Morfin toleransı oluştururken eş zamanlı vitamin D ve EB1089 uygulanan gruplarda elde edilen ortalama süreler tail flick testinde 60.dakikada (TF: $12,98 \pm 1,18$, $13,58 \pm 1,37$) hem kontrol (TF: $7,77 \pm 0,96$) hem de morfin tolerans grubundan (TF: $8,86 \pm 1,01$) anlamlı düzeyde ağrı eşiğini arttırdı ($p < 0.05$) (Şekil 4.5).

Hot plate testinde ise 30. dakikada hem morfin tolerans + vitamin D (HP: $27,61 \pm 4,05$), hem de morfin tolerans + EB1089 grubu (HP: $35,20 \pm 3,38$) kontrole göre (HP: $18,20 \pm 1,51$) anlamlı düzeyde ağrı eşiğini arttırdı.

60. dakikada ise morfin tolerans + vitamin D grubu (HP: $36,65 \pm 2,19$) hem kontrol (HP: $19,85 \pm 2,88$) hem de morfin tolerans grubuna ($27,17 \pm 2,67$) göre anlamlı düzeyde ağrı eşiğini arttırdı ($p < 0.05$).

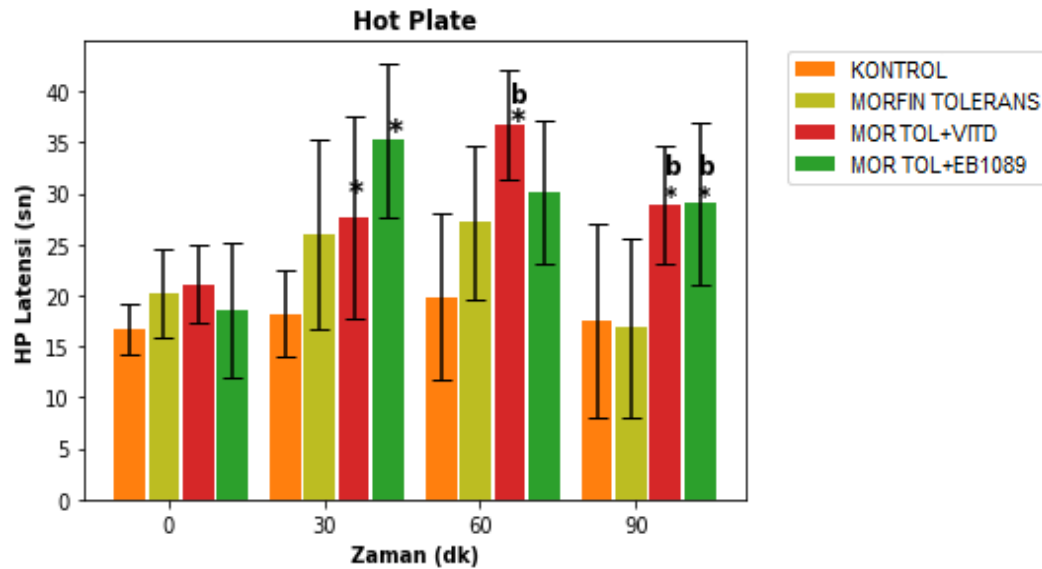
90. dakikada hem morfin tolerans + vitamin D (HP: $28,88 \pm 2,34$) hem de morfin tolerans + EB1089 grubu (HP: $28,98 \pm 3,52$), kontrol grubu (HP: $17,92 \pm 3,25$) ve morfin tolerans grubuna (HP: $20,57 \pm 2,44$) göre anlamlı düzeyde ağrı eşiğini arttırdı (Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Tail flick testinde vitamin D ve EB1089'un morfin toleransı üzerine etkileri

* Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı

^b Morfin tolerans grubuna göre anlamlı düzeyde farklı



Şekil 4.6. Hot plate testinde vitamin D ve EB1089'un morfin toleransı üzerine etkileri

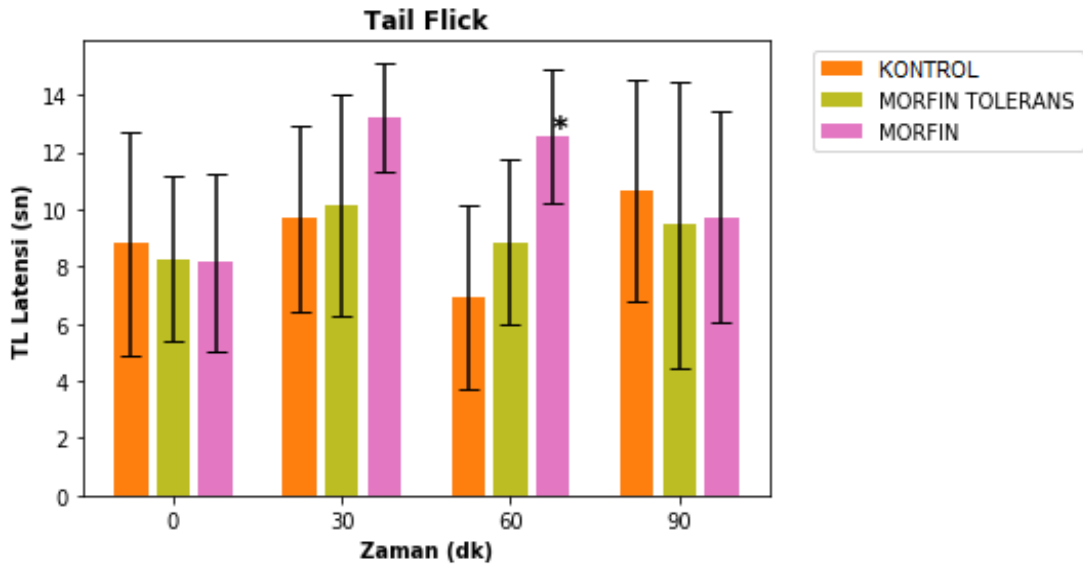
* Kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde farklı

^b Morfin tolerans grubuna göre anlamlı düzeyde farklı

4.4. Morfine Tolerans Oluşturulan Grupta Morfinin Etkisi

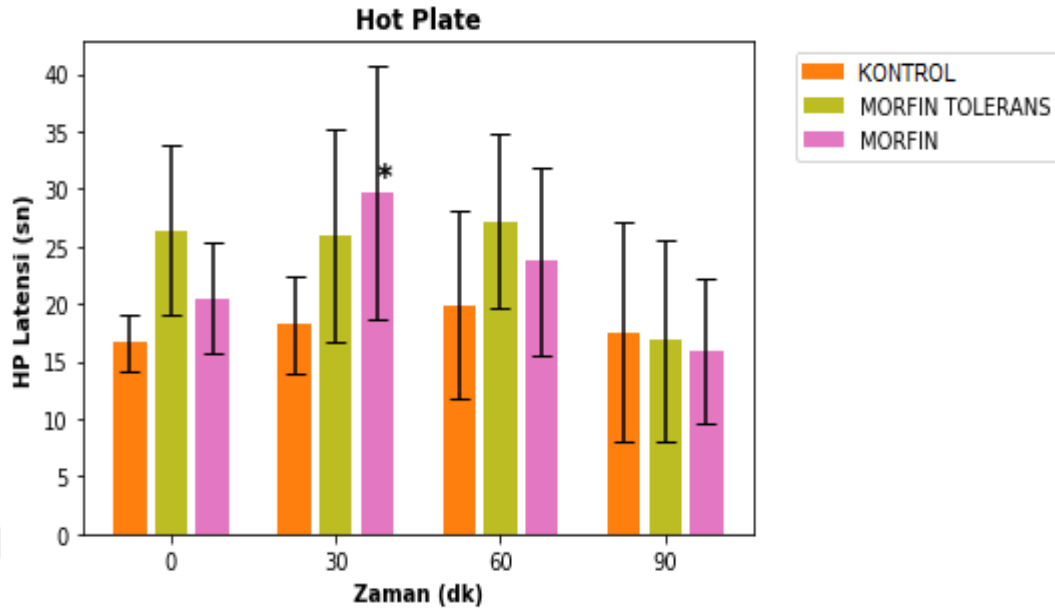
Morfin tek başına 5 mg/kg verildiğinde tail flick testinde 60. dakikada (TF: $12,55 \pm 0,8$) kontrol grubuna (TF: $7,77 \pm 0,96$) göre anlamlı düzeyde analjezik etki sağladı, morfin tolerans grubu ise kontrol grubu ile hiçbir ölçüm dakikasında anlamlı fark oluşturmadı ($p > 0.05$) (Şekil 4.7).

Hot plate testinde 30. dakikada morfin grubu (HP: $29,70 \pm 3,91$), kontrol grubu (HP: $18,20 \pm 1,51$) ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde tail- flick latensi arttı ($p < 0.05$), morfin tolerans grubunda (HP: $25,92 \pm 3,27$) ise anlamlı fark gözlenmedi (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Tail flick testinde morfin tolerans grubu ile sadece morfin grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)



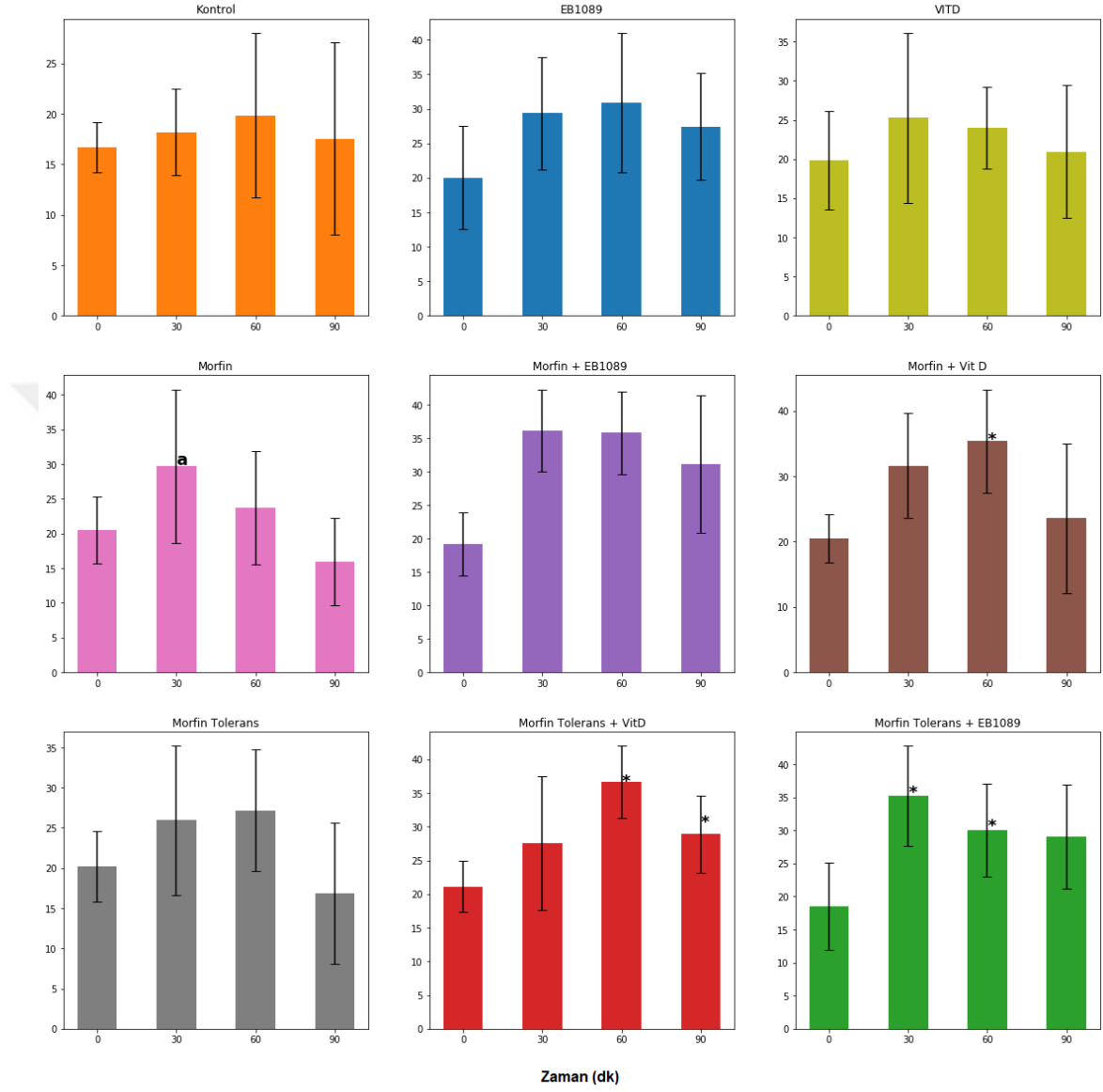
Şekil 4.8. Hot plate testinde morfin tolerans grubu ile sadece morfin grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması

* Kontrol grubundan anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)

4.5. Tekrarlı Ölçümlerde Grupların Kendi İçlerindeki Karşılaştırmaları

Grupların kendi içinde 0, 30, 60 ve 90. dakikalar arasındaki farkları hot plate testinde ağrı eşiğini gösteren latens süresine göre değerlendirildiğinde; kontrol, EB1089, vitamin D, morfin + EB1089 ve morfin tolerans gruplarında dakikalar arasında anlamlı bir fark yoktur ($p > 0.05$). Morfin grubunda 30. dakika 90. dakikaya göre anlamlı düzeyde hot plate latensi daha yüksekti ($p < 0.05$). Morfin + vitamin D grubunda ise 60. dakikadaki ölçüm 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde arttı ($p < 0.05$). Morfin tolerans + vitamin D grubunda 60 ve 90. dakikadaki hot plate latensi 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde arttı ($p < 0.05$). Morfin tolerans + EB1089 grubunda ise 30 ve 60. dakika 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde latens süresi arttı ($p < 0.05$) (Şekil 4.9).

Hot Plate



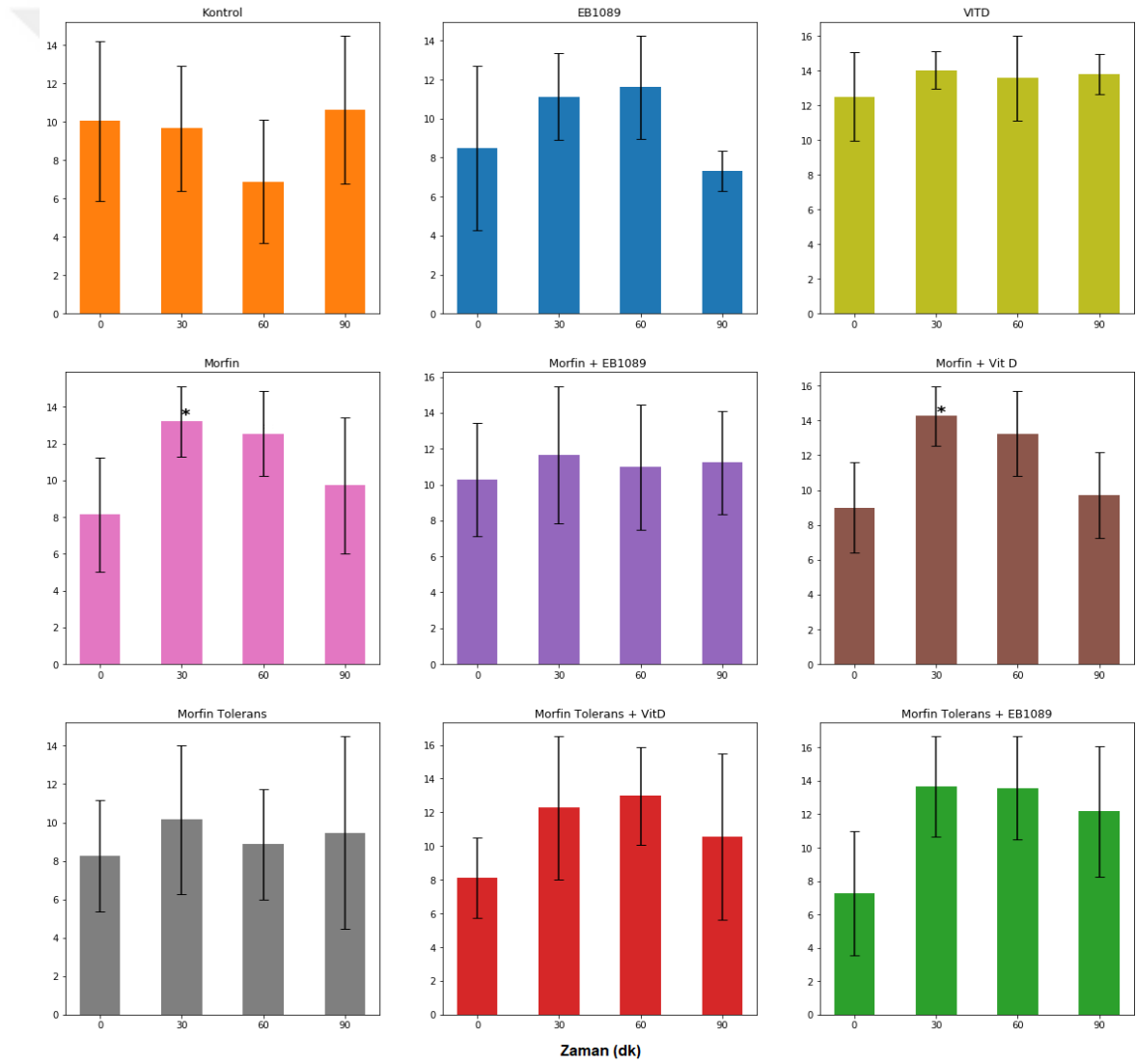
Şekil 4.9. Hot plate testinde grupların kendi içerisinde zamana göre değişimleri

* 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)

^a 90. dakikaya göre anlamlı düzeyde farklı ($p < 0.05$)

Grupların kendi içinde 0, 30, 60 ve 90. dakikalar arasındaki ağrı eşiği değerleri tail flick testinde değerlendirildiğinde; kontrol, EB1089, vitamin D, morfin + EB1089, morfin tolerans, morfin tolerans + vitamin D ve morfin tolerans + EB1089 gruplarında dakikalar arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Morfin grubunda 30. dakika, 0. dakikaya göre kuyruk çekme latensi anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). Morfin + vitamin D grubunda ise 30. dakikada ki kuyruk çekme latensi 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$) (Şekil 4.10).

Tail Flick



Şekil 4.10. Tail flick testinde grupların kendi içerisinde dakikaya göre değişimleri

* 0. dakikaya göre anlamlı düzeyde farklı ($p<0.05$)

4.6. Plazma Serotonin Düzeyleri

Gruplara ait serotonin düzeyleri tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Plazma serotonin düzeyleri (ortalama + standart hata)

Gruplar	Serotonin Düzeyleri (ng/ ml)
Grup I: Kontrol	106,03 ± 22,40
Grup II: Morfin	90,08 ± 24,97
Grup III: Morfin + Vit D	90,23 ± 12,27
Grup IV: Vit D	75,15 ± 17,73
Grup V: Morfin + EB1089	94,86 ± 18,26
Grup VI: EB1089	117,71 ± 19,04
Grup VII: Morfin Tolerans	118,61 ± 22,99
Grup VIII: Morfin Tolerans + Vit D	86,88 ± 31,78
Grup IX: Morfin Tolerans + EB1089	102,20 ± 9,04

Çalışma gruplarına ait plazma serotonin düzeyleri tespit edilen veri, istatiksel olarak karşılaştırıldığında plazma serotonin düzeyleri açısından gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Ağrı tedavisinde farmakolojik ve nonfarmakolojik birçok tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan ağrı kesici ilaçlar arasında yer alan opioid içeren müstahzarlar, güçlü etkinliklerine karşın en istenmeyen özellikleri uzun süreli tedavi gerektiren durumlarda ilaca karşı gelişen tolerans nedeniyle klinik etkinliğinin azalmasıdır. Oluşan tolerans nedeniyle, dozun arttırılması başta solunum depresyonu gibi ciddi yan etkilere yol açmaktadır.

Bu alışmada D vitamininin hem analjezik etkisinin hem de morfin analjezisi ve morfin toleransı üzerine olan etkilerinin araştırılması hedeflendi. Ayrıca bir VDR agonisti olan EB1089' un, reseptörün etkilerini arttırarak bu mekanizmalara katkı sağlayıp sağlamadığının araştırılmasında çalışmanın diğer bir amacı olarak yeraldi.

Vitamin D metabolizmasının yer aldığı esas organlar; bağırsaklar, böbrekler ve kemik dokusudur. Bununla beraber hemen her hücrede (beyin, kalp, mide, pankreas, deri, meme, gonadlar, T ve B lenfositleri, monositler vs.) VDR vardır. D vitamini hem kalsiyum metabolizması hem de iskelet dışı etkilerini VDR aracılığı ile yapar.

Vitamin D'nin kanıtlanmış ve potansiyel etkileri ile ilgili verilerin azlığı nedeniyle son zamanlarda yapılmış çalışmalar dikkat çekmektedir. Ağrı ile vitamin D arasındaki ilişki üzerine yapılmış çalışmalar incelendiğinde bu çalışmayla uyumlu şekilde anlamlı fark olanlarla birlikte anlamlı fark olmayan çalışmalar da literatürde mevcuttur.

Yaşlı popülasyonunda kronik kas iskelet ağrısı ile düşük vitamin D düzeylerinin incelendiği bir çalışmada anlamlı bir fark bulunamamıştır (Alipour ve ark., 2015). Farklı diğer çalışmalarda ise düşük 25-hidroksi D vitamini seviyeleri daha yüksek kronik ağrı insidansı ile ilişkilendirilmiştir (Atherton ve ark., 2009; Benson ve ark., 2006). Fibromiyalji hastalarında yapılan bir çalışmada katılımcıların % 42,6' sında vitamin D eksikliği görülmüş ve yapılan vitamin D takviyesi ile semptomlarda anlamlı düzeyde azalma görülmüştür (Arvolve ark., 2009).

Non- spesifik bel ağrısına sahip hastalara oral yoldan 50.000 IU sekiz hafta süreyle verilmiş olup, plasebo grubu ile arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Sandoughi, 2015). Başka bir çalışmada ise 150.000 IU/ ay dozunda 3 aylık kolekalsiferol uygulamasından sonra, düşük ve normal serum D vitamini düzeylerine sahip hastaların sırasıyla % 100 ve % 69' nun bel ağrısında % 50' den fazla iyileşme gözlemlenmiştir (Al Faraj ve Al Mutairi, 2003).

Diyabete bağlı nöropatik ağrılı hastaların incelendiği bir çalışmada 12 hafta süreyle 300.000 IU oral uygulanan vitamin D'nin ağrı üzerine iyileştirici etkisi bildirilmiştir (Sari ve ark., 2020).

Dismenoresi olan hastalarda vitamin D replasmanının semptomlar üzerinde iyileştirici bir etki sağladığı gösterilmiştir (Küçükceran ve ark., 2019). Osteoartritli hastalarda 6 ay süreyle 40.000 IU/ hafta oral yoldan verilen ergokalsiferol görsel ağrı skalasında azalma sağlamıştır (Manoy ve ark., 2017).

Yaygın kas- iskelet ağrılı hastalarda yapılan başka bir çalışmada ise 50.000 IU/ hafta, 3 ay boyunca uygulanan ergokalsiferol ağrı üzerinde anlamlı bir etki sağlamamıştır (Warner ve Arnsperger., 2008).

Nöropatik ağrı modeli oluşturulan sıçanlarda 4 hafta süreyle 1000 IU/ kg gavajla uygulanan vitamin D ağrı semptomlarını önemli ölçüde azaltmıştır (Poisbeau ve ark., 2019). Yapılan başka bir çalışmada siyatik sinir hasarı oluşturulan sıçanlarda sinir hasarı sonrası 3 hafta boyunca günlük 1000 IU/ kg i.p. olarak uygulanan vitamin D' nin ağrının davranışsal skorlarını azalttığı gösterilmiştir (Banafshe ve ark., 2019).

Çalışmalar değerlendirildiğinde uygulanan doz, örneklem büyüklüğü, vitamin D türü ve ağrı modellerinin farklılık göstermesine göre sonuçların da farklılaştığı görüldü. Çalışmalar ağırlıklı olarak kronik ve nöropatik ağrı üzerine yoğunlaşmıştır. Akut ağrı ile ilgili çalışma ise sınırlıdır. Bu çalışmada akut ağrı ile vitamin D ilişkisi değerlendirilmiştir. Bundan dolayı etki gücü yüksek ve yarılanma ömrü daha kısa olan en aktif form olan kalstriolün araştırmada kullanılması tercih edilmiştir.

Çalışmada ağrı eşiğini değerlendirmek için termal uyaranlarla oluşturulmuş kuyruk çekme (tail flick) ve pençe yalama (hot plate) testleri kullanıldı. Vitamin D uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde ağrı eşiğinin yüksek bulunması vitamin D'nin analjezik etki oluşturduğu şeklinde yorumlandı.

Literatüre bakıldığında sıçanlarda, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ve analoglarının kullanıldığı çalışmalarda 0.03 mg/kg, 10 µg/kg, 5 µg/kg, 2 µg/kg, 0,03 µg/kg gibi çeşitli doz aralıklarında kullanıldığı görülmüştür (Ma ve ark., 2016; Uyanıkgil ve ark., 2016; Tarbali ve Khezri, 2016; Ke ve ark., 2016; Liu ve ark., 2016). Bu nedenle bu çalışmaya başlamadan önce de etkin dozu belirlemek için pilot çalışma gerçekleştirildi. Vitamin D, 10 µg/kg dozunda uygulandı ve çalışmamızda sıçanlar üzerinde oluşturulan akut ağrıya fayda sağladı.

Yapılan başka bir çalışmada sıçanların dorsal kök gangliyonlarında (DRG), VDR ve vitamin D metabolize eden enzimlerin (CYP27B1 ve CYP24) tespit edilmesi (Tague ve Smith, 2011), ağrı sinyallerinin DRG üzerinden kortekse ulaştığı durumu düşünüldüğünde vitamin D'nin ağrı ile ilişkisinin önemini göstermektedir.

Morfin güçlü etkisinden dolayı şiddetli ağrılarda yaygın olarak kullanılan bir opioiddir. Parenteral yollardan uygulandıktan sonra yaklaşık 20 dakika içinde analjezik etki başlar, 45-90 dakikada maksimuma ulaşır ve 4-6 saat boyunca analjezik etki devam eder (Kayaalp, 2009; Dökmeci, 2007).

Morfin analjezik etkisini nosiseptif primer afferent nöronların presinaptik uçlarında yerleşmiş olan opioid reseptörlerine bağlanarak, endojen opioid peptidleri taklit etmek suretiyle gerçekleştirir (Lipp, 1991). Opioidlerin tedavi edici etkileri primer olarak, mü (μ), reseptörleri üzerinden gerçekleşir. Bu reseptörlerin en güçlü agonisti morfindir. 2 alt tipi olan mü reseptörleri, μ_1 reseptörleri aracılığıyla supraspinal analjezi oluşturur. Morfine afinitesi düşük olan μ_2 reseptörleri üzerinden opioidler öfori, solunum depresyonu, intestinal motilitede azalma ve fiziksel bağımlılık oluşturur (James ve ark., 1992).

Opioid reseptörlerin aktif hale gelmesiyle adenilat siklaz inhibe edilir ve hücre içine kalsiyum girişi azalır. Kalsiyum konsantrasyonunun düşmesi, başta glutamat olmak üzere asetilkolin, noradrenalin, dopamin, P maddesi ve 5-hidroksitriptamin salınımını inhibe eder. Ayrıca postsinaptik membranda K^+ kanallarını açarak membranı polarize eder ve inhibitör postsinaptik potansiyel oluşur. Bu mekanizmalar sonucunda spinal düzeyde analjezik etki meydana gelir (İnturrisi, 2002). Ancak bununla birlikte morfinin uzun süreli tekrarlı kullanımlarında analjezik etkide azalma meydana gelmesi sonucu morfin toleransı gelişir. Aynı terapötik etkiyi sağlamak için doz miktarının artırılması gerekir.

Opioidlerin analjezik etkisine tolerans gelişmesi kronik ağrının tedavisinde klinik kullanımı zorlaştırır (Mayer ve ark., 1995; Alboghobeish ve ark, 2019). Ayrıca dozdaki artış morfinin yan etkilerinin artmasına yol açabilmektedir.

Morfin toleransı, morfin metabolizmasının artması sonucu gelişen biyokimyasal bir tolerans değil, reseptör duyarlılığı ve sayısında azalmaya bağlı gelişen farmakodinamik bir toleranstır (Kayaalp, 2012).

Tolerans mekanizması tam anlaşılmamakla birlikte toleransa neden olan faktörler; opioid reseptör desensitizasyonu, reseptör down-regülasyonu, reseptör afinitesindeki değişiklikler, reseptörlerin internalizasyonu, siklik adenosin monofosfat (cAMP) transdüksiyon sisteminin up-regülasyonu ve sinyal iletim basamaklarındaki değişiklikler olarak sıralanabilmektedir (Schumacher, 2015; Liu ve Anand, 2001).

Glutamat ve inorganik iyonların sinaptik aralıktaki konsantrasyonlarında küçük değişiklikler, Ca^{+2} akışına izin verir ve L-arjinin'den nitrik okside (NO) dönüştüren nöronal nitrik oksit sentazı (nNOS) aktive eder. Son olarak, NO, toleransta aracı bir medyatör olan guanil siklaz yoluyla, guanozin trifosfatın (GTP), cGMP' ye dönüşümüne aracılık eder.

Kronik opioide maruz kalma, opioid toleransının gelişmesine katkıda bulunan hücre içi Ca^{+2} , NO ve cGMP seviyelerini artırarak, NMDA reseptör fonksiyonunu artırır. Antinosisepsiyonu artırmak ve toleransı geciktirmek için NMDA reseptör antagonistlerinin veya L-argininden NOS üreten inhibitörlerin kullanılmasının etkili olduğu kanıtlanmıştır (Zhao ve Joo, 2006; Ozdemir ve ark., 2011).

Yapılan başka bir çalışmada, NO sentezinin engellenmesi yani nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin antagonistleri morfine tolerans gelişimini önlemiştir (Kolesnikov ve ark., 1993). Farklı araştırmalar sonucunda tekrarlayan morfin uygulamalarının NOS biyosentezini arttırdığı düşünülmüştür. Nitro- L- Arginin (L-NA) veya Nitro- L- Arginin- Metilesterin (L-NAME) morfinle birlikte uygulanması morfine tolerans gelişimini engellemiş ve farelerde morfin bağımlılığının bazı bulgularını hafifletmiştir (Majeed ve ark., 1994).

Başka bir çalışmada da bir NOS inhibitörü olan L-NAME, morfinle kombine uygulanmış ve kombine kullanımın analjezik etkisi tail flick ve hot plate testlerinde

değerlendirildiğinde sadece morfin verilen gruba göre anlamlı düzeyde artmıştır (Durmuş, 2009).

Streptozotosin uygulanarak oluşturulan diyabetik sıçan modelinde intraserebroventriküler yolla uzun süre morfine maruz kalması sonucunda morfinin antinosisseptif etkisinde meydana gelen azalma bir iNOS inhibitörü olan aminoguanidin uygulanması ile düzeltilmiştir (Grover ve ark., 2000). Başka bir çalışmada yine iNOS inhibitörü olan aminoguanidin farelerde morfine bağlı gelişen toleransı zayıflatmıştır (Abdel ve ark., 2006).

Sunulan bu çalışmada vitamin D kullanımıyla morfin toleransının azaltılabilmesi hedeflendi. Çeşitli çalışmalarda vitamin D'nin hem protein hem de m-RNA seviyelerinde mikrogliya ve astrositleri aktive eden makrofajlarda nitrik oksit (NO) üreten enzim olan nitrik oksit sentazın (iNOS) sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir (Garcion ve ark., 1997; Garcion ve ark., 1998).

Vitamin D eksikliği oluşturmak amacıyla 28 günlükten itibaren raşitojenik diyetle beslenen ve 3-4 hafta ultraviyole içermeyen koloni odalarında barındırılan sıçanlarda morfin analjezisi azalmış ve morfine tolerans kontrol grubuna göre daha hızlı gelişmiştir. Beş gün süreyle 1000 IU kalsiferol subkutan yapılmış ve tedavi sonrası ağrı eşiği, morfinin analjezik etkisi ve tolerans gelişme hızı normale dönmüştür (Bazzani ve ark., 1984). Bu çalışmayla benzer şekilde sunulan çalışmamızda, vitamin D takviyesi ile hem morfinin analjezik etkisinde artış bulunmuş hem de morfin toleransı vitamin D uygulaması ile birlikte her iki ağrı eşiği tayini eden testlerde (kuyruk çekme ve pençe yalama) kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yavaşladığı gösterilmiştir.

Sunulan bu çalışmada ayrıca bir VDR agonisti olan EB1089'un, reseptörün etkilerini arttırarak bu mekanizmaya herhangi bir katkı sağlayıp sağlamadığı araştırıldı.

EB1089 (seokalsitol), hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını inhibe etmede kalsitriolden 50-200 kat daha güçlü sentetik bir vitamin D analogudur, ancak kalsitriole göre azalmış kalsemik aktivite gösterir (Hansen ve ark., 2000).

Literatürde çeşitli kanser hastalıklarında EB1089 ile ilgili yapılmış çalışmalar incelendiğinde 0,5 µg/kg, 7 µg/kg, 10 µg/kg ve 15 µg/kg gibi farklı doz uygulamaları ile karşılaşılmaktadır (Bhatia ve ark., 2009; Liska ve ark., 2012; Dalhoff ve ark., 2003).

Sunulan bu çalışmaya başlamadan önce etkin dozu belirlemek için pilot çalışmalar yapıldıktan sonra EB1089'un, 10 µg/kg dozunda i.p. olarak uygulanmasına karar verildi.

Yapılan literatür taraması sonucunda EB1089'un ağrı, morfin analjezisi ya da morfin toleransı üzerine etkisi ile ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmalar ağırlıklı olarak kanser türleri üzerine etkinliğinin incelendiği araştırmalar olarak yer almaktadır. Morfinin kanser ağrısında yaygın olarak kullanılması sunulan bu çalışmada vitamin D analogu olarak EB1089'un da önemli olacağını düşündürmüştür. CYP19A1 geni tarafından kodlanan aromataz enzimi, östrojen üretimini katalize eder ve bu nedenle aromatazin inhibisyonu, meme kanseri tedavisinde anahtar stratejilerden biri haline gelmiştir. EB1089'un gen ekspresyonunu ve enzim aktivitesini azaltabildiği ve inhibe edebildiği saptanmıştır (Lundqvist ve ark., 2013).

Başka bir çalışmada EB1089'un kültürdeki meme kanseri hücrelerinde büyümenin durmasına ve apoptozuna neden olduğu gösterilmiştir (Milliken ve ark., 2005). Hepatosellüler kanser hücrelerinde EB1089 apoptoz aktivitesini indükledi ve antiproliferasyon oluşturdu. Bu da klinik uygulamalarda tedavi için bir örnek teşkil edebilir (Zhang ve ark., 2013).

Bir diğer araştırmada 1,25(OH)₂D ve EB1089, in vivo olarak prostat kanseri metastazının belirgin ve eşdeğer inhibisyonunu gösterdi. EB1089, 1,25(OH)₂D' den önemli ölçüde daha az kalsemik olduğu ve ciddi kilo kaybına neden olmadığı gösterilmiştir (Lokeshwar ve ark., 1999).

Sunulan bu çalışmada, EB1089 tıpkı kalstriol gibi ağrıya dayanıklılığı arttırmıştır. Morfinin analjezik etkisini arttırırken, morfine karşı oluşan toleransı azaltmayı başarmıştır. Bu durumda özellikle morfin tedavisi gören kanser hastalarında hem ağrı ve tolerans üzerine olan olumlu etkilerinden dolayı hem de kanserli hücrelerin büyümesini engellemesi klinik kullanımda EB1089'u daha değerli hale getirebilir.

Serotonin (5-Hidroksitriptamin; 5-HT) triptofan aminoasidinin hidroksilasyon ve dekarboksilasyonuyla meydana gelir (Köylü H, 2018). 5-HT, Maurice Rapport ve Irvine Page tarafından 1948 yılında izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Rapport ve ark., 1948). Serotonin trombositlerde ve sindirim kanalında (enterokromafin hücreler ve miyenterik pleksusta) yüksek konsantrasyonda bulunur. Ayrıca beyin sapındaki rafe nükleusundan

kaynaklanan ve medulla spinalis arka boynuzu, hipotalamus, limbik sistem ve serebelluma uzanan liflerden salgılanır.

Serotonin inhibitör etkilidir ve medulla spinaliste ağrı yollarını baskılar (Köylü, 2018). Ağrının inhibisyonunda; rafe magnus, rostroventral medulla, nukleus paragigantoselülaris (nPGi) ve nPGi ventral kısımlarından inen serotonerjik nöronlar, nosiseptif sinyali ileten spinal kordun dorsal boynuz laminası ikinci sıra nöronlarda projekte olur. 900' den fazla geni kontrol ettiği görülen D vitamininin, aktivasyonla tutarlı bir VDRE içeren triptofan hidroksilaz 2 geni (TPH2) aracılığıyla beyin serotonin sentezinin temel bir düzenleyicisi olduğu ortaya çıkmıştır (Muss ve ark., 2016; Wang ve ark., 2020).

D vitamini yetersizliği ve omega-3 yağ asitlerinin diyetle düşük miktarda alımı serotonin yolağının işlev bozukluğuna yol açar ve genetik faktörlerle birlikte serotonin sistemindeki işlev bozukluğunun artmasına neden olabilmektedir (Patrick ve Ames, 2015).

Sunulan bu çalışmada uygulanan vitamin D'nin plazma serotonin düzeylerine etki edip etmediği incelendi. Ancak gruplar arasında plazma serotonin seviyeleri açısından anlamlı bir fark elde edilemedi. Otizmlı çocuklar üzerine yapılan bir araştırmada vitamin D takviyesi otizm bulgularını hafifletmesine karşın, serotonin seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır (Javadgar ve ark., 2020). Başka bir çalışmada da hiperaktivite ve dikkat eksikliği olan çocuklara yapılan vitamin D takviyesi serotonin seviyelerinde anlamlı bir fark meydana getirmedi (Seyedi ve ark., 2019).

Sonuç olarak;

Sunulan bu çalışmada vitamin D ve EB1089 uygulanan sıçanlarda ağrı eşiği artmış, morfinin analjezik etkisi desteklenmiş ve morfine karşı oluşan tolerans ise yavaşlatılmıştır.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde; opioid ilaçların klinikte özellikle kanser gibi şiddetli ağrılarda yaygın olarak kullanılması sonucu oluşan morfin toleransına karşı, morfinin vitamin D ve EB1089 ile desteklenerek uygulanması klinik kullanımı daha etkili ve uzun süreli hale getirebilir. Bu nedenle oluşturulacak tedavi protokolleri için etki mekanizmalarının da araştırılmasına yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sunulan çalışmada, sıçanların çalışma öncesinde vitamin D seviyelerinin bilinmemesi ve beyin dokusu üzerinde immunohistokimyasal olarak serotonin seviyelerinin incelenememiş olması çalışmanın kısıtlılıkları arasındadır. Yapılacak ileri çalışmalarda bu konular da ele alınarak daha detaylı araştırılabilir.



6. KAYNAKLAR

- Abdel-Zeher AO, Hamdy MM, Aly SA, Abdel-Hady RH, Abdel-Rahman S. Attenuation of morphine tolerance and dependence by aminoguanidine in mice, *Eur J Pharmacol*, 2006; 540: 60-66.
- Adams JS, Hollis BW. Vitamin D synthesis, Metabolism and Clinical Measurement. In: Coe, FL, Favus MJ (Eds), *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. 2nd ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2002: 157-74.
- Adler B, Goodman RR, Pasternak GW. Neuropeptides in the CNS. In: Bjorklund A, Hokfelt T, Kuhar MJ (Eds), *Handbook of Chemical Neuroanatomy*. Elsevier, New York, 1990: 359–393.
- Akkoyun HT, Bayramoğlu M, Ekin S, Çelebi F. D Vitamini ve Metabolizma İçin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, 2014; 9(3): 213-219.
- Al Faraj S, Al Mutairi K. Vitamin D deficiency and chronic low back pain in Saudi Arabia. *Spine*, 2003; 28(2): 177-179.
- Alboghobeish S, Naghizadeh B, Kheirollah A, Ghorbanzadeh B, Mansouri MT. Fluoxetine increases analgesic effects of morphine, prevents development of morphine tolerance and dependence through the modulation of L-type calcium channels expression in mice. *Behavioural Brain Research*, 2019; 361: 86-94.
- Al-Hasani R, Bruchas MR. Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *ASA*, 2011; 115(6): 1363-1381.

- Alipour M, Hosseini SR, Saadat P, Bijani A. The relationship between chronic musculoskeletal pain and vitamin d deficiency in the elderly population of Amirkola, Iran. *J. Babol Univ. Medical Sci.*, 2015; 17(10): 7-14.
- Altun A, Yildirim K, Ozdemir E, Bagcivan I, Gursoy S, Durmus N. Attenuation of morphine antinociceptive tolerance by cannabinoid CB1 and CB2 receptor antagonists. *J Physiol Sci*, 2015; 65(5): 407-415.
- Arvold DS, Odean MJ, Dornfeld MP. Corelation of symptoms with vitamin D deficiency and symptom response to cholecalciferol treatment: a randomized controlled trial. *Endocrine Practice*, 2009; 15(3): 203–212.
- Atherton K, Berry DJ, Parsons T, Macfarlane GJ, Power C, Hypponen E. Vitamin D and chronic widespread pain in a white middle-aged British population: evidence from a cross-sectional population survey. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009; 68(6): 817–822.
- Aydin O. Ağrı ve Ağrı Mekanizmalarına Güncel Bakış. *ADU Tıp Fakültesi Dergisi*, 2002; 3: 37-38.
- Banafshe HR, Khoshnoud MJ, Abed A, Saghzadeh M, Mesdaghinia A. Vitamin D supplementation attenuates the behavioral scores of neuropathic pain in rats. *Nutritional Neuroscience*, 2019; 22(10): 700-705.
- Bazzani C, Arletti R, Bertolini A. Pain threshold and morphine activity in vitamin D-deficient rats. *Life Sci*, 1984; 34: 461–466.
- Benson J, Wilson A, Stocks N, Moulding N. Muscle pain as an indicator of vitamin D deficiency in an urban Australian Aboriginal population. *The Medical Journal of Australia*, 2006; 185: 76–77.
- Bergman P, Sperner S, Höijer J, Bergqvist J, Björkhem-Bergman L. Low vitamin D levels are associated with higher opioid dose in palliative cancer patients—results from an observational study in Sweden, *PLoS ONE*, 2015; 10(5): e0128223.
- Bertin S, Aoki-Nonaka Y, de Jong PR, Nohara LL, Xu H, Stanwood SR. The ion channel TRPV1 regulates the activation and proinflammatory properties of CD4⁺ T cells. *Nat Immunol*, 2014; 15: 1055-1063.

- Bhatia V, Saini MK, Shen X, Bi LX, Qiu S, Weigel NL, Falzon M. EB1089 inhibits the parathyroid hormone–related protein–enhanced bone metastasis and xenograft growth of human prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2009; 8(7): 1787-1798.
- Bourne S, Machado AG, Nagel SJ. Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurg Clin N Am*, 2014; 25(4): 629-38.
- Brady SRE, Naderpoor N, de Courten MPJ, Scragg R, Cicuttini F, Mousa A. Vitamin D supplementation may improve back pain disability in vitamin D deficient and overweight or obese adults. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2019; 185: 212–217.
- Brannon PM, Yetley EA, Bailey RL, Picciano MF. Overview of the conference “Vitamin D and Health in the 21st Century: an Update”. *AJCN*, 2008; 88(2): 483-490.
- Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, Hollis BW, Strunk RC, Zeiger RS. Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Childhood Asthma Management Program study. *J Allergy Clin Immunol*, 2010; 126(1): 52-58.
- Bringham FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormones and disorders of mineral metabolism. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR (eds), *Williams Textbook of Endocrinology*, 11th ed, Elsevier, Philadelphia, 2008: 1203-1223
- Brumbaugh PF, Haussler MR. Nuclear and cytoplasmic binding components for vitamin D metabolites. *Life sciences*, 1975; 16(3): 353-362.
- Buğrul F. Süt Çocukluğu Dönemindeki Bebeklerin Annelerine Verilen D Vitamininin Çocuklardaki D Vitamini Düzeyine Etkisi, Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, 2011: 9-10.
- Cao JL, Vialou VF, Lobo MK, Robison AJ, Neve RL, Cooper DC. Essential role of the cAMP-cAMP response-element binding protein pathway in opiate-induced homeostatic adaptations of locus coeruleus neurons. *Proc Natl Acad Sci*, 2010; 107: 17011–17016.

- Chen Q, Larochelle MR, Weaver DT, Lietz AP, Mueller PP, Mercaldo S, Chhatwal J. Prevention of prescription opioid misuse and projected overdose deaths in the United States. *JAMA Network Open*, 2019; 2(2): e187621-e187621.
- Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010; 39(2): 243-53.
- Christie MJ. Cellular neuroadaptations to chronic opioids: tolerance, withdrawal and addiction. *Br J Pharmacol*, 2008; 154: 384-396.
- Cingi İ, Erol K, Özdemir M. Farmakoloji ders notları II. Eskişehir, 1996: 245-246.
- Cohen JA, Edwards TN, Liu AW, Hirai T, Ritter Jones M, Wu J, Li Y, Zhang S, Ho J, Davis BM, Albers KM, Kaplan DH. Cutaneous TRPV1 + neurons trigger protective innate type 17 anticipatory immunity. *Cell*, 2019; 178: 919-932.
- Çakıcı İ, Ercan ZS, Kanlık İ. Opioid peptidler. *Pharmacia*, 1987; 58(1): 30-36.
- D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther*, 1941; 72: 74-79.
- Dalhoff K, Dancey J, Astrup L, Skovsgaard T, Hamberg KJ, Lofts FJ, Evans TRJ. A phase II study of the vitamin D analogue Seocalcitol in patients with inoperable hepatocellular carcinoma. *BJC*, 2003; 89(2): 252-257.
- Dawson-Hughes B. Racial/ethnic considerations in making recommendations for vitamin D for adult and elderly men and women. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80: 1763-1766.
- Değişli CM. Kemik metastazı olan meme kanserli hastalarda verilen D vitamini tedavisinin dolaşımdaki hsp-90 ve ck-18 düzeyleri üzerine etkisi. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2010.
- Del Pinto R, Pietropaoli D, Chandar AK, Ferri C, Cominelli F. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2015; 21(11): 2708-2717.
- Dimeloe S, Nanzer A, Ryanna K, Hawrylowicz C. Regulatory T cells, inflammation and The allergic response-The role of glucocorticoids and vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010; 120: 86-95.

- Dökmeci İ. Opiyoid analjezikler. In: Dökmeci İ (Editör). Farmakoloji İlaçlar ve Etkileri (1.baskı), Alfa Basım Yayım, İstanbul, 2007: 553-577.
- Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 1977; 4: 161-174.
- Durmuş N. NO/cGMP Yolağının Sıçanlarda Ağrıya, Morfin Analjezisine ve Morfine Karşı Gelişen Toleransa Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Sivas, 2009; 67-68.
- Dursun AD. Vitamininin Kemik Metabolizması Dışındaki Etkileri. *Beslenmede Yenilikler I-II. Katkı Pediatri Dergisi*, 2007; 28: 225-34.
- Dursun E, Gezen AD, Yılmaz S. Vitamin D Uygulamasının Primer Hippokampal Nöronlardaki İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (İnos) Anlatımı Üzerine Etkileri. *Archives Of Neuropsychiatry/Noropsikiatri Arşivi*, 2014; 51(2): 163-168.
- Eddy NB, Leimback D. Synthetic analgesics. II. Dithinylbutenyl and Dithinylbutenyl⁵⁸ lamines. *J Pharmacol Exp Ther*, 1953; 107: 385-393.
- eksikliğinin rolünün araştırılması, Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Diyarbakır, 2011: 17.
- Erdine S. Ağrı mekanizmaları ve ağrıya genel yaklaşım. In: Erdine S (Editör). Ağrı (3. Baskı), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2007: 19-48.
- Erdine S. Ağrı ve akılcı analjezik kullanımı (2. Baskı), TEB ve Sanovel İlaç, Ankara, 1999: 1-8.
- Ersöz B, Kalsiyum ve fosfor metabolizmasını düzenleyen hormonlar. In: Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Edt), İnsan Biyokimyası, Ankara, Palme Yayıncılık, 2002: 467-472.
- Ertekin C. Ağrının nöroanatomisi ve nörofizyolojisi. In: Yegül İ (Editör). Ağrı ve tedavisi, Yapım Matbaacılık, İzmir, 1993: 1-18.
- Eyles DW, Smith S, Kinobe R. Distribution of the vitamin D receptor and 1 α -hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat*, 2005; 29: 21-30.

- Federation of State Medical Boards of the United States. Model guidelines for the use of controlled substances for the treatment of pain, Euless, TX: The Federation, 1998.
- Fields HL. The Pain System - the Neural Basis of Nociceptive Transmission in the Mammalian Nervous-System-Willis,Wd. Science, 1985; 228(4707): 1522-1522.
- Flanagan L, Packman K, Juba B, O'Neill S, Tenniswood M, Welsh J. Efficacy of vitamin D compounds to modulate estrogen receptor negative breast cancer growth and invasion. J Steroid Biochem Mol Biol, 2003; 84: 181-192.
- Garcion E, Nataf S, Berod A, Darcy F, Brachet P. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase in rat central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. Molecular Brain Research, 1997; 45(2): 255-267.
- Garcion E, Sindji L, Montero-Menei C, Andre C, Brachet P, Darcy F. Expression of inducible nitric oxide synthase during rat brain inflammation: regulation by 1, 25-dihydroxyvitamin D3. Glia, 1998; 22(3): 282-294.
- Garland CF, Garland FC, Gorham ED. The role of vitamin D in cancer prevention. Am J Public Health, 2006; 96: 252-261.
- Garland CF, Gorham ED, Mohr SB. Vitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. J Steroid Biochem Mol Biol 2007; 103: 708-711.
- Ghaderi A, Rasouli-Azad M, Farhadi MH, Mirhosseini N, Motmaen M, Pishyareh E. Exploring the effects of vitamin D supplementation on cognitive functions and mental health status in subjects under methadone maintenance treatment. J Addict Med, 2020; 14: 18–25.
- Ghous Z, Akhter J, Pourgholami MH, Morris DL. Inhibition of hepatocellular cancer by EB1089: in vitro and in vivo study. Anticancer Research, 2008; 28: 3757-3761.
- Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association Between Serum 25hydroxyvitamin D Level and Upper Respiratory Tract Infection In The Third National Health And Nutrition Examination Survey. Arch Intern Med, 2009; 169(4): 384-90.

- Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L. Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *J. Intern. Med*, 2000; 247 (2): 260-268.
- Goldblatt H, Soames KM. A study of rats on a normal diet irradiated daily by the mercury vapour quartz lamp or kept in darkness. *Biochemical Journal*, 1923; 17(2): 294-297.
- Gross C, Krishnan AV, Malloy PJ. The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants. *J Bone Miner Res*, 1998; 13: 1691-1699.
- Grover VS, Sharma A, Singh M. Role of nitric oxide in diabetes-induced attenuation of antinociceptive effect of morphine in mice. *Eur J Pharmacol*, 2000; 399: 161–4.
- Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji* (11.baskı), Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ. (Çeviri Editörleri), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2006: 598-609.
- Gülcü D. Tip 1 diabetes mellitus hastalarında D vitamini düzeyleri, Uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Bakırköy Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği, İstanbul, 2011: 63
- Habib AM, Nagi K, Thillaiappan NB, Sukumaran V, Akhtar S. Vitamin D and its potential interplay with pain signaling pathways. *Frontiers in Immunology*, 2020; 11: 820.
- Haffner F. Experimentelle prüfung schmerzstillender mittel. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1929; 55(18): 731-733.
- Han MH, Bolaños CA, Green TA, Olson VG, Neve RL, Liu RJ. Role of cAMP response element-binding protein in the rat locus ceruleus: regulation of neuronal activity and opiate withdrawal behaviors. *J Neurosci*, 2006; 26: 4624–4629.
- Hansen CM, Hamberg KJ, Binderup E. Seocalcitol (EB 1089): A vitamin D analogue of anti-cancer potential. Background, design, synthesis, pre-clinical and clinical evaluation. *Curr Pharm Des*, 2000; 6(7): 803-828.

- He L, Whistler JL. The biochemical analysis of methadone modulation on morphine-induced tolerance and dependence in the rat brain. *Pharmacology*, 2007; 79: 193–202.
- Heaney RP, Dowell MS, Hale CA. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*, 2003; 22: 142-146.
- Heavner JE, Willis WD. Pain pathways: Anatomy and physiology. In: Raj PP (ed). *Practical Management of Pain* (3rd ed), Mosby Inc, St Louis, 2000: 107-145.
- Heidari B, Shokri J, Firouzbaji A, Heidari P, Hajian, K. Association between nonspecific skeletal pain and vitamin D deficiency. *Int J Rheum Dis*, 2010; 13(4): 340-346.
- Helde-Frankling M, Höijer J, Bergqvist J, Björkhem-Bergman L. Vitamin D supplementation to palliative cancer patients shows positive effects on pain and infections-results from a matched case-control study. *PLoS ONE*, 2017; 12: e0184208.
- Henderson A. Vitamin D and the breastfed infant. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 2005; 34: 367-72.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011; 96: 1911–1930.
- Holick MF. High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clin Proc*, 2006; 81: 353- 373.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 2007; 357: 266-281.
- Holick MF. Vitamin D: Extraskelatal Health. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010; 39(2): 381-400.
- Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr*, 2004; 79: 362–371.
- Hoogendijk WJ, Lips P, Dik MG. Depression is associated with decreased 25 hydroxyvitamin D and increased parathyroid hormone levels in older adults. *Arch Gen Psychiatry*, 2008; 65: 508-512.

<https://teachmeanatomy.info/neuroanatomy/structures/spinal-cord-grey-matter>. Erişim tarihi: 10 Ocak 2021.

Hudspith MJ, Sindall PJ, Munglani R. Physiology of pain. Hemmings HC, Hopkins PM (eds). Foundations of Anesthesia (2nd ed), Mosby Elsevier, Philadelphia, 2005: 267-285.

Inturrisi CE. Clinical Pharmacology of Opioids for Pain. The Clinical Journal of ilişkisi. Uzmanlık Tezi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, 2011: 21.

İyidir ÖT, Altınova AE. Vitamin D ve Diabetes Mellitus. Turk Jem, 2012; 16: 89-94.

James MK, Vuong A, Grizzle MK. Schuster SV, Shaffer JE. Hemodynamic effects of GI87084B, an ultra-short acting mu-opioid analgesic, in anesthetized dogs. J Pharmacol Exp Ther, 1992; 263: 84-91.

James SY, Mercer E, Brady M. EB1089, a synthetic analogue of vitamin D, induces apoptosis in breast cancer cells in vivo and in vitro. Br. J. Pharmacol, 1998; 125(5): 953-962.

Jameson JL. Harrison Endokrinoloji, Akçay T (Çeviri Editörü), Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2013: 400-405.

Javadfar Z, Abdollahzad H, Moludi J, Rezaeian S, Amirian H, Foroughi AA, Mostafai R. Effects of vitamin D supplementation on core symptoms, serum serotonin, and interleukin-6 in children with autism spectrum disorders: A randomized clinical trial. Nutrition, 2020; 79: 110986.

Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. J Lipid Res, 2014; 55: 13–31.

Jones G, Prosser DG. The activating enzymes of vitamin D. Vitamin D, 2011; 45: 23-42.

Kartal F, Özyalçın NS. Hayvanlarda Akut ve Kronik Ağrı Modellerinin Değerlendirilmesi. In: Önal SA (Editör). Algoloji (1. Baskı), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2004: 299-324.

- Kasiappan R, Sun Y, Lungchukiet P, Quarni W, Zhang X, Bai W. Vitamin D suppresses leptin stimulation of cancer growth through microRNA. *Cancer Res*, 2014; 74: 6194-204.
- Kayaalp SO. Opioid analjezikler. In: Kayaalp SO (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (12. Baskı), Feryal Matbaacılık, Ankara, 2009: 796-815.
- Kayaalp SO. Opioid analjezikler. Kayaalp SO (Editör). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (13. Baskı), Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2012: 826-845.
- Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Klinik Farmakoloji (11.baskı), Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık, Ankara, 2005: 757-764.
- Ke CY, Yang FL, Wu WT, Chung CH., Lee RP, Yang WT, Liao KW. Vitamin D3 reduces tissue damage and oxidative stress caused by exhaustive exercise. *Int J Med Sci*, 2016; 13(2): 147.
- Kim TW, Alford DP, Holick MF, Malabanan AO, Samet JH. Low vitamin d status of patients in methadone maintenance treatment. *J Addict Med*, 2009; 3: 134–138.
- Koeffler HP, Reichel H, Bishop JE, Norman AW. γ -Interferon stimulates production of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 by normal human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 1985; 127(2): 596-603.
- Kolesnikov YA., Pick CG, Ciszewska G, Pasternak GW. Blockade of tolerance to morphine but not to kappa opioids by a nitric oxide synthase inhibitor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993; 90(11): 5162-5166.
- Köylü H. Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji, İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul, 2018: 39.
- Kragstrup TW. Vitamin D supplementation for patients with chronic pain. *Scand J Primary Health Care*, 2011; 29: 4–5.
- Kucukceran H, Ozdemir O, Kiral S, Berker DS, Kahveci R, Ozkara A, Atalay CR, Ateş İ. The impact of circulating 25-hydroxyvitamin and oral cholecalciferol treatment on menstrual pain in dysmenorrheic patients. *Gynecol Endocrinol*, 2019; 35: 53–57.
- Kurt A. Üreme çağındaki obez kadınlarda vitamin D düzeyi ve metabolik sendrom

- Larson MJ, Paasche-Orlow M, Cheng DM, Lloyd-Travaglini C, Saitz R, Samet JH. Persistent pain is associated with substance use after detoxification: a prospective cohort analysis. *Addiction*, 2007; 102: 752-760.
- Lee MT, Licursi M, McMahon DJ. Vitamin D deficiency and acute vaso-occlusive complications in children with sickle cell disease. *Pediatric Blood & Cancer*, 2015; 62(4): 643-647.
- Lee P, Chen R. Vitamin D as an analgesic for patients with type 2 diabetes and neuropathic pain. *Archives of Internal Medicine*, 2008; 168(7): 771-772.
- Li Z, Jia Z, Gao Y, Xie D, Wei D, Cui J, Mishra L, Huang S, Zhang Y, Xie K. Activation of vitamin D receptor signaling downregulates the expression of nuclear FOXM1 protein and suppresses pancreatic cancer cell stemness. *Clin Cancer Res*, 2015; 21: 844-853.
- Lipp J. Possible mechanisms of morphine analgesia, *Clin Neuropharmacol*, 1991; 14(2): 131-147.
- Liska J, Macejova D, Ondkova S, Brtko J. Morphology of 1-methyl-1-nitrosourea induced rat mammary tumours after treatment with precursor of phytanic acid or its combination with vitamin D analogue. *Endocrine regulations*, 2012; 46(1): 21-26.
- Liu J-G, Anand KJS. Protein kinases modulate the cellular adaptations associated with opioid tolerance and dependence. *Brain Research Reviews*, 2001; 38(1): 1-19.
- Liu L, Lv G, Ning C, Yang YE, Zhu J. Therapeutic effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on diabetes-induced liver complications in a rat model. *Exp Ther Med*, 2016; 11(6): 2284-2292.
- Lokeshwar BL, Schwartz GG, Selzer MG, Burnstein KL, Zhuang SH, Block NL, Binderup L. Inhibition of prostate cancer metastasis in vivo: a comparison of 1, 25-dihydroxyvitamin D (calcitriol) and EB1089. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1999; 8(3): 241-248.
- Long W, Fatehi M, Soni S, Panigrahi R, Rees Kelly G, Philippaert K. 258-LB: vitamin D directly regulates TRPV1 channel activity may play an important role in the autoimmune disease of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2019; 68: 280.

- Lotfi A, Abdel-Nasser AM, Hamdy A, Omran AA, El-Rehany MA. Hypovitaminosis D in female patients with chronic low back pain. *Clinical rheumatology*, 2007; 26(11): 1895-1901.
- Lundqvist J, Hansen SK, Lykkesfeldt AE. Vitamin D analog EB1089 inhibits aromatase expression by dissociation of comodulator WSTF from the CYP19A1 promoter—a new regulatory pathway for aromatase. *BBA Molecular Cell Research*, 2013; 1833(1): 40-47.
- Ma R., Deng XL, Du GL, Li C, Xiao S, Aibibai Y, Zhu J. Active vitamin D3, 1, 25-(OH) 2D3, protects against macrovasculopathy in a rat model of type 2 diabetes mellitus. *Genetics and molecular research: GMR*, 2016; 15(2): gmr8113.
- Majeed NH, Przewlocka B, Machelska H, Przewlocki R. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates the development of morphine tolerance and dependence in mice. *Neuropharmacology*, 1994; 33: 189–92.
- Manoy P, Yuktanandana P, Tanavalee A, Anomasiri W, Ngarmukos S, Tanpowpong T, Honsawek S. Vitamin D supplementation improves quality of life and physical performance in osteoarthritis patients. *Nutrients*, 2017; 9(8): 799.
- Manson JE, Bassuk SS. Vitamin D research and clinical practice: at a crossroads. *JAMA*, 2015; 313: 1311–1312
- Marangoz C. Ağrı ve analjezinin fizyolojik temelleri, *OMÜ Tıp Dergisi*, 1993; 10(3-4): 93-109.
- Mayer DJ, Mao J, Price DD. The development of morphine tolerance and dependence is associated with translocation of protein kinase C. *Pain*, 1995; 61(3): 365-374.
- Mc Grath J, Eyles D, Mowry B, Yolken R, Buka S. Low maternal vitamin D as a risk factor for schizophrenia: a pilot study using banked sera. *Schizophr Res*, 2003; 63: 73-78.
- McBeth J, Pye SR, O'Neill TW. Musculoskeletal pain is associated with very low levels of vitamin D in men: results from the European Male Ageing Study. *Ann Rheum Dis*, 2010; 69: 1448–1452.

- Merskey HM, Bogduk N. Classification of Chronic Pain (2nd ed.), IASP Press, 1994: 211-218.
- Milliken EL, Zhang X, Flask C, Duerk JL, MacDonald PN, Keri RA. EB1089, a vitamin D receptor agonist, reduces proliferation and decreases tumor growth rate in a mouse model of hormone-induced mammary cancer. *Cancer letters*, 2005; 229(2): 205-215.
- Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*, 2008; 122(2): 398-417.
- Mitsikostas DD, Tsaklakidou D, Athanasiadis N, Thomas A. The prevalence of headache in Greece: correlations to latitude and climatological factors. *Headache*, 1996; 36 (3): 168–173.
- Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol*, 1997; 11(8): 1165-1179.
- Molinari C, Uberti F, Grossini E, Vacca G, Carda S, Invernizzi M, Cisari C. 1α , 25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell Physiol Biochem*, 2011; 27(6): 661-668.
- Morgan GE, Mikhail MG. Pain Management. In: *Clinical Anesthesiology* (2nd ed.), Prentice-Hall International, New Jersey, 1996: 274-316.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 1994; 367: 284-287.
- Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25- hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA*, 2006; 296(23):2832-2838.
- Muss C, Mosgoeller W, Endler T. Mood improving potential of a vitamin trace element composition—a randomized, double blind, placebo controlled clinical study with healthy volunteers. *Neuroendocrinology Letters*, 2016; 37(1): 18-28.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. *Farmakoloji Lippincott's Illustrated Reviews*. Oktay S, Berkman K, Onat F, Gören Z. (Çeviri Editörleri), Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 1998: 133-142.

- Nagi K, Pineyro G. Kir3 channel signaling complexes: focus on opioid receptor signaling. *Front Cell Neurosci*, 2014; 8: 186.
- Nagi K, Pineyro G. Regulation of opioid receptor signalling: implications for the development of analgesic tolerance. *Mol Brain*, 2011; 4: 25.
- Nakamura K, Wu S-X, Fujiyama F, Okamoto K, Hioki H, and Kaneko T. Independent inputs by VGLUT2-and VGLUT3-positive glutamatergic terminals onto rat sympathetic preganglionic neurons. *Neuroreport*, 2004; 15(3): 431-436.
- Norman PE, Powell JT. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *Circ Res*, 2014; 114: 379-393.
- of morphine tolerance and dependence in mice. *Eur J Pharmacol*, 2000; 409(3): 279-89.
- Oh RC, Johnson JD. Chest pain and costochondritis associated with vitamin D deficiency: a report of two cases. *Case Reports in Medicine*, 2012.
- Ozdemir E, Bagcivan I, Durmus N, Altun A, Gursoy S. The nitric oxide–cGMP signaling pathway plays a significant role in tolerance to the analgesic effect of morphine. *Can J Physiol Pharmacol*, 2011; 89(2): 89-95.
- Önal SA. *Algoloji*, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2004: 1-20.
- Özçelik D, Koçer H, Kasım İ, Şencan İ, Kahveci R, Özkara A. D vitamini. *Turkish Medical Journal*, 2012; 6: 61-67.
- Özkan B, Döneray H. The non-skeletal effects of vitamin D. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 2011; 53: 99-119.
- Özyalçın SN, Koltka K, Uyar M. Akut ağrı genel bilgiler. In: Özyalçın SN. (Editör), *Akut Ağrı*, Günes Kitapevi, Ankara, 2005: 1-24.
- Pain, 2002; 18: 3-13.
- Pascussi JM, Robert A, Nguyen M, Walrant-Debray O, Garabedian M, Martin P. Possible involvement of pregnane X receptor-enhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest*, 2005; 115: 177-186.
- Patrick RP, Ames BN. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: Relevance for ADHD, bipolar disorder,

- schizophrenia, and impulsive behavior. *The FASEB Journal*, 2015; 29(6): 2207-2222.
- Plotnikoff GA, Quigley JM. Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. In *Mayo clinic proceedings*, 2003; 78(12): 1463-1470.
- Poisbeau P, Aouad M, Gazzo G, Lacaud A, Kemmel V, Landel V. Cholecalciferol (Vitamin D3) reduces rat neuropathic pain by modulating opioid signaling. *Mol Neurobiol*, 2019; 56: 7208–7221.
- Prudencio J, Akutsu N, Benlimame N, Wang T, Bastien Y, Lin R, Black MJ, AlaouiJamali MA, White JH. Action of low calcemic 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 analogue EB1089 in head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 2001; 93: 745-53.
- Raghavendra V, Kulkarni SK. Possible mechanisms of action in melatonin reversal
- Raja SN, Meyer RA, Ringkamp M, Cambell JN. Pripheral neural mechanisms of nociception. In: Wall PD, Melzack R (Eds), *Textbook of Pain*. 4th Edition, Harcourt Publisher Limited, Hong Kong, 1999: 11-59.
- Rapport MM., Green AA, Page IH. Crystalline serotonin. *Science*, 1948; 108(2804): 329-330.
- Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 2014; 383(9912): 146-155.
- Rexed B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol*, 1952; 96(3): 415-495.
- Richards JB, Valdes AM, Gardner JP. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere lengTh in women. *Am J Clin Nutr*, 2007; 86: 1420-1425.
- Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 2012; 33: 456–492.
- Rosenblum A, Joseph H, Fong C, Kipnis S, Cleland C, Portenoy RK. Prevalence and characteristics of chronic pain among chemically dependent patients in

- methadone maintenance and residential treatment facilities. *JAMA*, 2003; 289: 2370-2378.
- Sandoughi, M., Zakeri, Z., Mirhosainee, Z., Mohammadi, M., & Shahbakhsh, S. The effect of vitamin D on nonspecific low back pain. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2015; 18(8): 854-858.
- Saps M, Blank C, Khan S, Seshadri R, Marshall BM, Bass LM, Di Lorenzo C. Seasonal variation in the presentation of abdominal pain. *JPGN*, 2008; 46(3): 279-284.
- Sari A, Akdogan Altun Z, Arifoglu Karaman C, Bilir Kaya B, Durmus B. Does vitamin D affect diabetic neuropathic pain and balance? *J Pain Res*, 2020; 13: 171–179.
- Schumacher MA, Basbaum AI, Naidu RK. Opioid Agonists & Antagonists. In: Katzung BG, Trevor AJ. (Eds). *Basic Clinical Pharmacology* (13th ed), 2015: 531-51.
- Seyedi M, Gholami F, Samadi M, Djalali M., Effatpanah M, Yekaninejad MS, Honarvar NM. The effect of vitamin D3 supplementation on Serum BDNF, dopamine, and serotonin in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, 2019; 18(6): 496-501.
- Shen CH, Tsai RY, Tai YH, Lin SL, Chien CC, Wong CS. Intrathecal etanercept partially restores morphine's antinociception in morphine-tolerant rats via attenuation of the glutamatergic transmission. *Anesth & Analg*, 2011; 113(1): 184-90.
- Shipton EA, Shipton EE. Vitamin D and pain: vitamin D and its role in the aetiology and maintenance of chronic pain states and associated comorbidities. *Pain Res Treat*, 2015; 1-12
- Shy M, Chakrabarti S, Gintzler AR. Plasticity of adenylyl cyclase-related signaling sequelae after long-term morphine treatment. *Mol Pharmacol*, 2008; 73: 868–879.
- Sinatra RS, Hord AH, Ginsberg LM. *Acute Pain, Mechanism and Management*, Mosby Year Book, St. Louis, 1992: 29-39.
- Straube S, Derry S, Moore RA. Vitamin D for the treatment of chronic painful conditions in adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015; 5: CD007771.

- Suda T, Ueno Y, Fujii K, Shinki T. Vitamin D and bone. *J Cell Biochem*, 2002; 88: 259–266.
- Sundaram S, Sea A, Feldman S, Strawbridge R, Hoopes PJ, Demidenko E, Binderup L, Gewirtz DA. The combination of a potent vitamin D3 analog, EB 1089, with ionizing radiation reduces tumor growth and induces apoptosis of MCF-7 breast tumor xenografts in nude mice. *Clin Cancer Res*, 2003; 9: 2350-2356.
- Szigethy E, Knisely M, Drossman D. Opioid misuse in gastroenterology and non-opioid management of abdominal pain. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018; 15: 168-180.
- Tague SE, Smith PG. Vitamin D receptor and enzyme expression in dorsal root ganglia of adult female rats: modulation by ovarian hormones. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2011; 41(1): 1-12.
- Tarballi S, Khezri S. Vitamin D3 attenuates oxidative stress and cognitive deficits in a model of toxic demyelination. *IJMBS*, 2016; 19(1): 80.
- Taussig R, Iniguez-Lluhi JA, Gilman AG. Inhibition of adenylyl cyclase by Gi alpha. *Science*, 1993; 261(5118): 218-221.
- Tjolsen A, Lund A, Berge O-G, and Hole K. An improved method for tail-flick testing with adjustment for tail-skin temperature. *J Neurosci Methods*, 1989; 26(3): 259-265.
- Tjolsen A, Berge O-G, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 1992; 51(1): 5-17.
- Trujillo KA, Akil H. Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science*, 1991; 251(4989): 85-87.
- Türken M. Tip 1 ve Tip 2 diyabetes mellitus hastalıklarının patogeneğinde D vitamini
- Unna K. Antagonistic effect of *N*-allylnormorphine upon morphine. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 1943; 79: 27-31.
- Uyanıkgil Y, Solmaz V, Çavuşoğlu T, Çınar BP, Çetin EÖ, Sur HY, Erbaş O. Inhibitor effect of paricalcitol in rat model of pentylenetetrazol-induced seizures. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch*, 2016; 389(10): 1117-1122.

- Uzbay İT. Psikofarmakolojinin temelleri ve deneysel araştırma teknikleri., Çizgi Tıp Yayınevi, Ankara, 2004: 139-145.
- Waikakul S. Serum 25-hydroxy-calciferol level and failed back surgery syndrome. *Journal of Orthopaedic Surgery*, 2012; 20 (1): 18-22.
- Wang L, Gintzler AR. Morphine tolerance and physical dependence: reversal of opioid inhibition to enhancement of cyclic AMP formation. *J Neurochem*, 1995; 64: 1102-1106.
- Wang Y, Miller JW, Bello NT, Shapses SA. Low-vitamin-D diet lowers cerebral serotonin concentration in mature female mice. *Nutrition Research*, 2020; 81: 71-80.
- Warner AE, Arnsperger SA. Diffuse musculoskeletal pain is not associated with low vitamin D levels or improved by treatment with vitamin D, 2008; *J Clin Rheumatol* 14(1): 12-16.
- Yang HY, Wu ZY, Wood M, Whiteman M, Bian JS. Hydrogen sulfide attenuates opioid dependence by suppression of adenylate cyclase/cAMP pathway. *Antioxidants Redox Signal*, 2013; 20: 31-41.
- Yücel A. Hasta Kontrollü Analjezi (PCA), Ufuk Reklamcılık ve Matbaacılık, İstanbul, 1997: 5-19.
- Zeng QY, Chen R, Xiao Z. Low prevalence of knee and back pain in southeast China; the Shantou COPCORD study. *The Journal of Rheumatology*. 2004; 31 (12): 2439-2443.
- Zhang J, Zhang H, Zhang X, Yu Z. Synergistic effect of retinoic acid and vitamin D analog EB1089-induced apoptosis of hepatocellular cancer cells. *Cytotechnology*, 2013; 65(3): 457-465.
- Zhang X, Jiang F, Li P, Li C, Ma Q, Nicosia SV, Bai W. Growth suppression of ovarian cancer xenografts in nude mice by vitamin D analogue EB1089. *Clin Cancer Res*, 2005; 11: 323-328.
- Zhao M, Joo DT. Subpopulation of dorsal horn neurons displays enhanced N-methyl-D-aspartate receptor function after chronic morphine exposure. *Anesthesiology*, 2016; 104(4): 815-825.

Zhou C, Assem M, Tay JC, Watkins PB, Blumberg B, Schuetz EG, Thummel KE. Steroid and xenobiotic receptor and vitamin D receptor crosstalk mediates CYP24 expression and drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest*, 2006; 116: 1703-1712.





T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 18.01.2019

Toplantı Sayısı: 01

Karar No:19/003

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 18.01.2019 tarihinde Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA 'nın başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Fahri OĞUZKAYA	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fakültesi	
Gültekin ATALAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Fusun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Serpil SARIOZKAN	Prof. Dr.	Veteriner Fakültesi	
Yusuf KONCA	Prof. Dr.	Ziraat Fakültesi	
Ahmet ÖZTÜRK	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
M. Betül AYCAN	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Zühal HAMURCU	Doç. Dr.	Tıp Fakültesi	
Sezer DEMİRBUĞA	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Zeynep CAFEROĞLU	Dr.Öğr.Üyesi	Sağlık Bilimleri Fakültesi	
Çağrı Çağlar SİNMEZ	Dr.Öğr.Üyesi	Veteriner Fakültesi	
Burcu ÜNLÜ ENDİRLİK	Dr.Öğr.Üyesi	Eczacılık Fakültesi	
Zeynep SOYER SARICA	Dr.	Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Arş.Mrkz.	KATILMADI
Özge AL	Arş. Görevlisi	Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK)	
Ali KOÇ	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Sivil Üye	
Mehmet TAV	Dernek Üyesi (Avukat)	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D.'dan Prof. Dr. Asuman GÖLGEİ tarafından sunulan "Vitamin D ve Vitamin D Reseptör (VDR) Agonist EB1089'un Ağrı, Morfin Analjezisi ve Morfin Toleransı Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması" başlıklı proje incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 18.01.2019

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Fahri OĞUZKAYA

İmza :

VİTAMİN D VE VİTAMİN D RESEPTÖR (VDR) AGONİSTİ
EB1089'UN AĞRI, MORFİN ANALJEZİSİ VE MORFİN
TOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİNİN SIÇANLARDA
ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%11	%8	%3	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.sakarya.edu.tr İnternet Kaynağı	%2
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%2
3	libratez.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	%1
5	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
6	www.cshd.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
8	dspace.baskent.edu.tr:8080	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri:

Medeni Durumu:

Tel:

email:

Yazışma Adresi:

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üni., Sağlık Bil.Ens. / Fizyoloji ABD	2014
Lisans	Gazi Osman Paşa Üni./ Hemşirelik	2011
Lise	Atatürk Sağlık Meslek Lisesi, Sivas	2007

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2011- Halen	Bozok Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO	Öğretim Görevlisi
2009–2011	Sivas Yıldızeli Devlet Hastanesi	Hemşire

YABANCI DİL

İngilizce (YÖKDİL; 92,5)

YAYINLAR

1. Özocak, O., Başçıl, S. G., & Gölgele, A. Egzersiz ve Nöroplastisite. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9(1), 31-38, 2019.
2. Dolu N., Gündüz S., Kara A.Y, Acer H.,Tasan S., Khan A, “Is There Treatment Effect Of Vinpocetine On Autonomic Dysfunction In Rats With Alzheimer?” , Asian J Pharm Clin Res, Vol 10, Issue 2, pp. 89-91, 2017
3. Yıldırım G, Sarı E, Gündüz S, Yolcu S. Paramedik Eğitiminin Dünü ve Bugünü. Smyrna Tıp Dergisi, 2014: 3(1): 51-53
4. Goldman's Cecile Medicine, Çeviri Editörü: Prof.Dr.Serhat ÜNAL, 24.Baskı,Bölüm XXV, Beslenme ve Alkolün Nörolojik Hastalıklarla İlişkisi,425s ,Seda GÜNDÜZ BAŞÇIL,2015
5. Gündüz Başçıl S. Bel Ağrıları. Kormaz M. (Editör), Yaşlılarda Ortopedik ve Romatolojik Sorunlar. 2. baskı, Akademisyen Yayınevi, Ankara, 2020: 131-141
6. Gündüz Başçıl S. Boyun Ağrıları. Kormaz M. (Editör), Yaşlılarda Ortopedik ve Romatolojik Sorunlar. 2. baskı, Akademisyen Yayınevi, Ankara, 2020: 143-149
7. Başçıl SG, Gölgele A. THE EFFECT OF VITAMIN D AND VITAMIN D RECEPTOR (VDR) AGONIST EB1089 ON MORPHINE TOLERANCE,11th INTERNATIONAL CONGRESS ON MATHEMATIC, ENGINEERING AND NATURAL SCIENCES January 30-31, 2021 Karak, JORDAN