

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ DONEPEZİL'İN DANA
KARDİYAK VEN DÜZ KASINA ETKİLERİ- TEMPERATÜRÜN
ROLÜ**

Büşra TOPTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

KONYA-2020

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Büşra TOPTAŞ'ın "Asetilkolinesteraz İnhibitörü Donepezil'in Dana Kardiyak Ven Düz Kasına Etkileri-Temperatürün Rolü" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/24.01/2020



Tez Danışmanı

Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK
N.E.Ü.Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD

Jüri Üyesi

Prof.Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI

S.Ü. Tıp Fakültesi

Fizyoloji AD



Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN

N.E.Ü. Meram Tıp Fakültesi

Tıbbi Farmakoloji AD



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 05/02/2020 tarih ve 03./..09. sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**The Effects of Acetylcholinesterase Inhibitor Donepezil on Calf Cardiac Vein Smooth Muscle- Role of Temperature**” by Büşra TOPTAŞ that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of Medical Pharmacology, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan.

Konya, TURKEY /24./01./ 2020



Principal Advisor

Prof. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine



Examination Committee Member
Prof. Abdülkerim Kasım BALTAÇI
Selçuk University Faculty of Medicine



Examination Committee Member
Assist. Prof. İpek DUMAN
Necmettin Erbakan University
Meram Faculty of Medicine

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Director of Institute of Health Sciences

05./02./ 2020

BEYANAT

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, yararlandığım bütün bilgi ve yorumları kaynak olarak gösterdiğimi ve kaynaklar listesinde sunduğumu, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24.01.2020

Büşra TOPTAŞ

İmza: 



[Ödevler](#) [Öğrenciler](#) [Not Defteri](#) [Kütüphaneler](#) [Takvim](#) [Tartışma](#) [Tercihler](#)

GÖRÜNTÜLENİYOR: ANASAYFA > YÜKSEK LİSANS > ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ DONEPEZİL'İN DANA KARDİYAK VEN DÜZ KASINA ETKİLERİ- TEMPERATÜRÜN ROLÜ

Bu sayfa hakkında

Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu

ASETİLKOLİNESTERAZ İNHİBİTÖRÜ DONEPEZİL'İN DANA KA...

GELEN KUTUSU | GÖRÜNTÜLENİYOR: YENİ ÖDEVLER ▾

Dosyayı Gönder

<input type="checkbox"/>	YAZAR	BAŞLIK	BENZERLİK	PUANLA	C
<input type="checkbox"/>	Büşra TOPTAŞ	tez	%8	--	

Telif Hakkı © 1996 – 2020 Turnitin, LLC. Tüm Hakları Sak

[Gizlilik Politikası](#) [Gizlilik Sözleşmesi](#) [Hizmet Koşulları](#) [AB Veri Koruma Uyumluluğu](#) [Telif Hakkı](#)

Prof.Dr. K.Esra ATALIK
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi
Farmakoloji A.D. Öğretim Üyesi

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez süresince çalışmalarımda bana yol gösteren, tezimi en verimli şekilde hazırlamama büyük katkısı olan, benden bilgilerini, ilgi ve alakasını eksik etmeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana vermiş oldukları bilimsel desteklerinden dolayı Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN'e ve hocalarım Sayın Doç. Dr. Salim Yalçın İNAN'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Gerek lisans eğitimim süresince gerekse sonrasında benden bilimsel ve manevi desteklerini esirgemeyen, farmakolojiyi sevmemde büyük katkısı olan, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. V. Melih ALTAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneyde kullandığımız Donepezil etken maddesini sağladıkları için İLKO İlaç San. ve Tic. A.Ş.'ye ve dana kalbini temin etmemize yardımcı olan Akşeker Tarım Et Entegre Tesisleri'ne teşekkürlerimi sunarım.

Bana her zaman güvenen, kararlarıma saygı duyan, maddi ve manevi her anlamda bana destek olan, sevgi, şefkat ve yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman hayatımı kolaylaştıran ve tez çalışmamda da bana destek olan aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

<i>Kabul ve Onay</i>	<i>ii</i>
<i>Approval</i>	<i>iii</i>
<i>Beyanat</i>	<i>iv</i>
<i>Teşekkür</i>	<i>v</i>
<i>İçindekiler</i>	<i>vi</i>
<i>Simge ve Kısaltmalar</i>	<i>viii</i>
<i>Şekiller</i>	<i>x</i>
<i>Tablolar</i>	<i>xi</i>
<i>Özet</i>	<i>xii</i>
<i>Abstract</i>	<i>xiii</i>
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Kardiyak Ven</i>	3
2.2. <i>Karbakol (karbamilkolin)'e Bağlı Kasılma Mekanizması</i>	4
2.3. <i>Donepezil</i>	5
2.4. <i>Nitrik Oksit</i>	14
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1. <i>DeneySEL Prosedür</i>	17
3.2. <i>İstatistiksel Yöntemler</i>	18

3.3. Kullanılan İlaçlar	18
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	24
7.KAYNAKLAR.....	25
8.ÖZGEÇMİŞ	31



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
AH	Alzheimer Hastalığı
ATP	Adenozin Trifosfat
BH4	Tetrahidrobiopterin
Ca²⁺	Kalsiyum İyonu
CaM	Kalmodulin
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
Cl⁻	Klor İyonu
CO₂	Karbondioksit Molekülü
DAG	Diaçilgliserol
DMSO	Dimetil Sulfoksit
EDRF	Endotel-Kaynaklı Gevşetici Faktör
ET-1	Endotelin-1
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mono Nükleotid
IP₃	İnositol 1,4,5-trifosfat
K⁺	Potasyum İyonu
L-NA	Nitro-L-Arjinin
L-NAME	N _ω -Nitro-L-Arjinin Metil Ester Hidroklorid
L-NIO	N-İminoetil-L-Ornitin
L-NMMA	N-Monometil-L-Arginin
MLCK	Miyozin Hafif Zincir Kinaz
Na⁺	Sodyum İyonu
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂	Oksijen molekülü
pIC₅₀	IC ₅₀ değerinin Negatif Logaritması

PKG

Protein Kinaz

PKC

Protein Kinaz C

PLC

Fosfolipaz C



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.1.	Kardiyak Ven.....	3
Şekil 2.2.1.	Düz Kasta Karbakol'e Bağlı Kasılma Mekanizması	5
Şekil 2.3.1.	Donepezil'in Kimyasal Yapısı	5
Şekil 2.3.2.	Asetilkolin'in Metabolizması	7
Şekil 2.4.1.	Nitrik Oksit Biyosentezi	15
Şekil 2.4.2.	Düz Kas Dokusunda Nitrik Oksit'e Bağlı Gevşeme Mekanizması...	16
Şekil 4.1.	Donepezil ile Elde Edilen Gevşeme Cevapları	20

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörlerinin Farmakolojik Özellikleri	8
Tablo 2.3.2. Asetilkolinesteraz İnhibitörlerinin Yan Etkileri	10
Tablo 2.3.3. Türkiye’de Donepezil Etken Maddesini İçeren Ticari Müstahzarlardan Bazıları	11



ÖZET

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Asetilkolinesteraz İnhibitörü Donepezil'in Dana Kardiyak Ven Düz Kasına Etkileri-Temperatürün Rolü

Büşra TOPTAŞ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi / Konya -2020

Dana kardiyak veninde yapılan bu *in vitro* çalışmada, karbakol (10^{-6} M)'e bağlı kasılma üzerine donepezil (10^{-9} - 3×10^{-4} M) ile elde edilen gevşeme cevapları ve bu cevaplara temperatürün rolü araştırılmıştır. Ayrıca donepezil'e bağlı gevşeme cevaplarına damar endotelinden salıverilen nitrik oksit'in olası katkısı değerlendirilmiştir.

Dana kardiyak ven halkaları, 37 °C'de ısıtılan ve normal Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, % 95 O_2 ve % 5 CO_2 karışımı ile sürekli gazlandırılan 15 ml'lik organ banyosunda asıldı. Preparatlara, dinlenme süresinin sonunda, 10^{-6} M karbakol ilavesiyle elde edilen kasılma cevapları üzerine uygulanan donepezil, konsantrasyona bağımlı gevşeme cevapları oluşturdu. Dokular normal temperatürde 10^{-6} M karbakol ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo ısısı 28 °C'ye düşürülerek, banyoya kümülatif olarak ilave edilen donepezil'e ait pIC_{50} değerleri 37 °C'de bulunan değerlere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu. Nitrik oksid sentez inhibitörü nitro-L-arjinin-metil-ester (L-NAME; 10^{-4} M) ile 20 dk inkübasyon, her iki temperatürde de donepezil'e duyarlıkta anlamlı olarak azalmaya neden oldu.

Bu sonuçlar, karbakol ile ön kasılma yapılan dana kardiyak veninde donepezil'in konsantrasyona bağlı gevşemeye neden olduğunu ve soğutma esnasında donepezil'e duyarlığın arttığını, ayrıca donepezil cevaplarında nitrik oksit'in rolünün olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Donepezil; Kardiyak ven; Karbakol; Nitrik oksid; Soğutma

ABSTRACT

REPUBLIC of TURKEY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

The Effects of Acetylcholinesterase Inhibitor Donepezil on Calf Cardiac Vein Smooth Muscle-Role of Temperature

Büşra TOPTAŞ
Department of Medical Pharmacology
Master Thesis/ Konya-2020

In this *in vitro* study, the effect of donepezil (10^{-9} - 3×10^{-4} M) in calf cardiac vein and the role of temperature on donepezil-induced responses was investigated. In addition, the possible contribution of nitric oxide released from the vascular endothelium to the relaxation responses due to donepezil was evaluated.

Ring preparations of cardiac veins obtained from calf hearts were suspended in organ baths containing 15 ml of Krebs-Henseleit solution, maintained at 37 °C and continuously gassed with 95% O₂ - 5% CO₂. After a resting period, donepezil was applied cumulatively on carbachol (10^{-6} M)-pre-contracted calf cardiac vein rings and induced concentration-dependent relaxations. In another part of the study, the medium temperature was decreased to 28 °C after the preparations were contracted with carbachol, then cumulative concentrations of donepezil was added. During cooling, the pIC₅₀ value to donepezil was significantly higher than at 37 °C. Pre-incubation with nitric oxide synthase inhibitor N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 10^{-4} M) for 20 min decreased the pIC₅₀ to donepezil.

These results suggest that donepezil-induced concentration-dependent vasodilation of pre-contracted calf cardiac vein and during cooling the sensitivity to donepezil increased furthermore, nitric oxide plays a role in the donepezil-induced responses.

Key words: Carbachol; Cardiac vein; Cooling; Donepezil; Nitric oxide

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Klinikte Alzheimer hastalığı (AH) tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ajan olan donepezil, hastalığın hafif, orta ve şiddetli olmak üzere tüm aşamalarında kullanılabilmesi için onay almış spesifik ve geri dönüşümlü bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörüdür (Cummings ve ark. 2013). Donepezil'in vasküler etkileri konusunda çok az veri mevcut olup, bu ajan ile yapılan tedavinin serebral bölgesel kan akımını koruduğu ve sıçan serebral parenkimal arteriyollerinde nöronal nitrik oksid sentaz (nNOS)'ı selektif olarak aktive ederek akut vazodilatasyon oluşturduğu gösterilmiştir (Nakahata ve ark. 2008).

Damar düz kasında çeşitli ilaçlara verilen yanıtlar, fiziksel ve kimyasal bir takım faktörlerden etkilenmektedir (Massett ve ark. 1998a, Weisser ve ark. 2001). Bu faktörlerden biri sıcaklık olup, ortam sıcaklığının normal çalışma sıcaklığının altına indirilerek (<37 °C) soğutma yapılması, damar düz kasının endojen ve eksojen ajanlara cevabında değişikliğe neden olabilmektedir. Farklı tür ve organlardan izole edilen düz kaslı yapılarda sıcaklığın etkileri araştırılmış ve araştırmacılar tarafından kas tonusunun sıcaklığa fazlaca bağlı olduğu rapor edilmiştir (Thulesius ve Yousif 1990). Sıcaklığa bağlı cevapları araştıran çalışmalar çoğunlukla yüzeysel damarlarda yapılmış olup, derin damarlarda soğutmanın etkisi daha az sayıda çalışmada araştırılmıştır. Mustafa ve arkadaşları (2001b) tarafından yapılan çalışmalarda, kutanöz damarlardaki kasılma yanıtlarının aksine, izole sıçan aortu ve pulmoner arterin soğuğa maruz bırakılmaları durumunda dilate oldukları bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar tarafından, femoral arterde, pulmoner venede ve vena cavada da soğutma esnasında benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Mustafa ve ark. 2007). Thulesius ve Yousif (1990) da, soğutma esnasında yüzeysel venlerin kasılırken, derin ekstremitelerde damarlarının gevşediğini kaydetmişlerdir.

Nitrik oksit (NO) damar endotel hücrelerinden salıverilen ve damar düz kasında guanilat siklazı uyarmak suretiyle güçlü vazodilatasyon oluşturan endojen bir maddedir. Soğutma esnasında ilaçlara verilen cevaplara, endotel tabakasından

saliverilen NO'in rolü az sayıda ve çoğunlukla yüzeysel damarlarda araştırılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Dana kalbinden izole edilen ve derin bir damar olan kardiyak vende yapılan bu çalışmada, donepezil'e verilen cevaplar ve bu cevaplara temperaturün etkisi ayrıca nitrik oksit sentez inhibitörü varlığında cevapların ne şekilde değiştiğini araştırmak amaçlanmıştır. İzole derin damarlarda temperaturün etkilerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça az sayıda olup, literatürde damar düz kasında donepezil'e bağlı cevaplar konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bundan dolayı sunulan bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

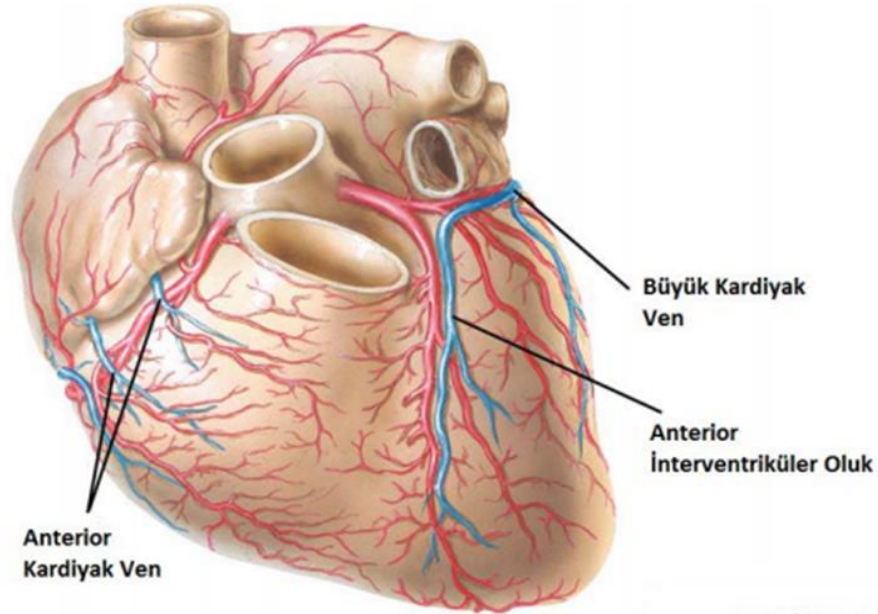


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kardiyak Ven

Büyük kardiyak ven, kalbin venöz sistemi içerisinde bulunmakta olup, anterior interventriküler venin devamıdır. Anterior interventriküler sulkusta sol anterior inen arterin komşuluğunda lokalizedir ve apeksten koroner sinüs içerisine doğru devam eder (Şekil 2.1.1.). Anterior interventriküler ven; anterior interventriküler septumu, her iki ventrikülün anterior yüzeyini, sol atriyumun bir parçasını ve kalbin apikal bölgesini drene eder.

Orta kardiyak ven ise apeksten başlar ve posterior desendan arter komşuluğunda inferior interventriküler sulkus boyunca yukarı doğru devam eder. Koroner sinüs en geniş ven olup, sol sirkumfleks arter ve atriyoventriküler oluk arterine eşlik ederek, posterior atriyoventriküler olukta seyrederek. Koroner sinüs proksimal kesimde, büyük kardiyak ven ve distalde orta kardiyak ven ile birleşerek sağ atriyuma drene olur.

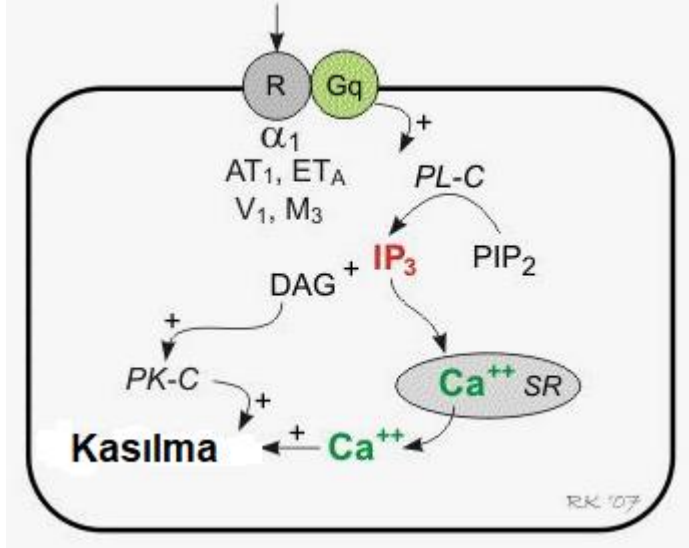


Şekil 2.1.1. Büyük Kardiyak Ven (Netter 2000)

2.2. Karbakol (karbamilkolin)'e Bağlı Kasılma Mekanizması

Karbakol, sentetik bir kolin esteridir. Nonspesifik nikotinic ve muskarinic reseptör agonisti olan karbakol, kolinerjik bir ilaç olarak sınıflandırılmaktadır. Gastrointestinal sistemden absorpsiyonu ve kan-beyin bariyerinden geçişi iyi olmadığı için genellikle topikal olarak kullanılmaktadır. Kolinesterazlarla kolay metabolize edilemediğinden etkisi 4-8 saat sürebilmektedir. Karbakol ile yapılan araştırmalarda, hem presinaptik hem de postsinaptik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Kurbağa nöromusküler kavşağında yapılan çalışmalarda presinaptik etkisiyle ACh salınımını azalttığı gösterilmiştir (Nikolsky ve ark. 2004). Postsinaptik ve hücre içi etkilerini araştırmak amacıyla yapılan araştırmalarda da; düz kasta muskarinic reseptörleri etkilediği ve membran depolarizasyonunda değişiklik oluşturduğu, bunun sonucunda L-tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanalını aktive ederek hücre içine kalsiyum girişini artırdığı tespit edilmiştir (Kajioka ve ark. 2002). Ayrıca hücre içi inositolfosfat konsantrasyonunu ve ventrikül miyositinde yapılan çalışmalarda hücre içine sodyum iyonu girişini artırması sonucu, sodyum/kalsiyum (Na^+/Ca^{2+}) pompasını stimüle ederek kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olduğu belirlenmiştir (Protas ve ark. 1998).

Muskarinic reseptörlerin M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5 şeklinde farklı alt tiplerinden M_3 ; düz kasta yoğun olarak bulunur. Karbakol, deneysel çalışmalarda kasıcı ajan olarak önemli bir yere sahiptir. Eglen ve Whiting (1990), domuz ve sığır koroner arterlerinde yaptıkları çalışmalarda karbakol'ün, muskarinic reseptörlerin M_3 alt tipini aktive ederek, damar düz kasında kasılma cevabı oluşturduğunu bildirmişlerdir. M_3 tipi muskarinic reseptör alt tipi, G_q/G_{11} sınıfı G proteini ile kenetlenir, fosfolipaz C aktivasyonu sonucu ikinci ulaklar; inositol trifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. Inositol trifosfat, hücre içi depolardan kalsiyum (Ca^{2+}) salıverilmesine, DAG ise protein kinaz C aktivasyonuna neden olur, hücrede belirli proteinlerin fosforilasyonu sonucu düz kasın kasılması gerçekleşir (Caufield M. 2003; Hulme ve ark. 2003) (Şekil 2.2.1).

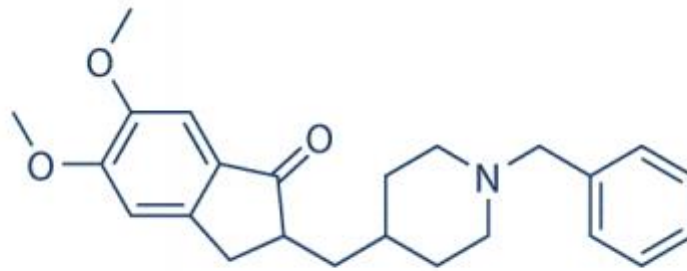


Şekil 2.2.1. Düz Kasta Karbokol'e Bağlı Kasılma Mekanizması (Klabunde 2012)

2.3. Donepezil

Donepezil, 1997 yılında tedavi alanına giren geri dönüşümlü (reversible), selektif ve sentetik AChE inhibitörüdür. Donepezil, kimyasal olarak indanonbenzilpiperidin türevidir; *1-benzil-4-[(5,6-dimetoksi-1-indanon)-2-il] metilpiperidinhidroklorid* (Sugimoto ve ark. 1995).

Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) adlandırması: 2-[(1-benzilpiperidin-4-il)metil]-5,6-dimetoksi-2,3dihidroinden- 1-on, şeklindedir. Molekül formülü $C_{24}H_{29}NO_3$ olup (Şekil 2.3.1), molekül ağırlığı; 379.5 g/ mol'dür.

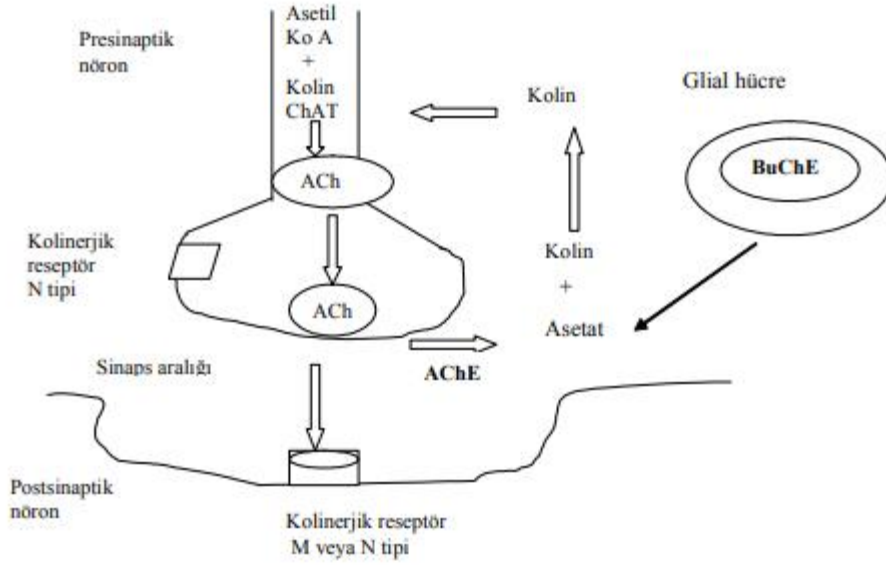


Şekil 2.3.1. Donepezil'in Molekül Yapısı

Asetilkolinesteraz, nörotransmitter ACh'i kolinerjik ve nöromüsküler sinapslarda hızla koline ve asetata hidrolize eden ve böylece kolinerjik sinir iletiminde önemli bir rol oynayan, sinir sisteminin en etkili enzimlerinden biridir. Nörotransmitter ACh, mitokondrilerde hücre solunumunun bir ürünü olan asetil koenzim A'dan ve lipit metabolizmasında önemli bir rol oynayan kolinden türetilmektedir (Bear ve ark. 2001). Asetilkolin, sinaptik boşluğa salındıktan sonra hem pre hem de postsinaptik membran üzerinde yer alan ACh reseptörlerine (AChR) bağlanır.

Asetilkolin, sinaps ve kavşak aralığında bulunan AChE tarafından hidrolize uğrar, kolin ve asetik aside dönüştürülerek elimine edilir (Şekil 2.3.2). Antikolinesteraz ilaçlar, asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmek suretiyle periferde nöromüsküler kavşak ve otonomik gangliyonlardaki sinapslar dahil bütün kolinerjik kavşaklarda ACh birikmesine neden olarak postsinaptik membrandaki kolinerjik reseptörleri, ACh aracılığı ile dolaylı bir şekilde aktive ederler (Kayaalp 2012).

Alzheimer hastalarının beyinlerinde korteks ve hipokampüste, AChE'in etkinliğinin arttığı, buna bağlı olarak ACh miktarı ve aktivasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Günümüzde AH'nın ilaçla tedavisinde en spesifik yaklaşım asetilkolin esteraz inhibitörleridir. Kolinesteraz inhibitörü ilaçların temel etkileri, kolinerjik kavşaklarda ACh'in yıkımını engelleyerek, kavşakta bu nörotransmitterin birikimi ile etkisinin potansiyalize olmasını sağlamaları şeklindedir. Kolinesterazlar substrat seçiciliklerine göre iki gruba ayrılmaktadır. Bunlardan ACh gibi asetil esterlerini hidroliz eden enzime "asetilkolinesteraz" veya "gerçek kolinesteraz" denilmekte ve eritrositler, lenfositler, trombositler, akciğer, dalak, çizgili kaslar, sinir sonları ve beyinde gri cevherde bulunmakta; butirilkolin gibi esterleri parçalayanlar ise, butirilkolinesteraz (BuChE) veya "psödokolinesteraz" şeklinde adlandırılmakta olup, karaciğerde, pankreasta, kalpte, beyindeki beyaz maddede ve serumda bulunmaktadır. Bu iki enzim, genetik, yapısal ve kinetik olarak farklıdır (Kayaalp 2002). Donepezil, AChE'a daha yüksek etkinlik göstermekte olup; AChE/BuChE oranı 1265/1'dir. Donepezil'in AChE için selektivitesinin yüksek oluşu, BuChE'de olmayan Trp-279 ve Phe-330 aminoasitleri ile bağlanması esasına dayanmaktadır (Merino 2019).



Şekil 2.3.2. Asetilkolin'in Metabolizması (Alaşehirli 2005)

Asetilkolin, öğrenme ve hafıza süreçlerinde sinir sisteminde reseptörlerle etkileşen anahtar nörotransmitterdir. Kolinergic kavşak ve sinaplardan salınan ACh miktarının Alzheimer hastalarında azaldığının saptanması ile 1970'lerde ACh'i parçalayan AChE'nin inhibe edilerek ACh miktarının artırılması şeklinde bir yaklaşım ortaya çıkmıştır (Quinn 1987; Francis ve ark. 1999).

Alzheimer hastalığında kolinergic sistem fonksiyonunda azalmanın yanında, nörofibriler yumakların oluşumu ve beta (β) amiloid plakların birikimi en önemli patolojiler arasında yer almaktadır. Kolinergic sistemde ACh düzeyinde oluşan azalma; kognitif, bilişsel ve davranışsal bozukluklara neden olmaktadır. Kolinesteraz inhibitörleri ile tedavide hedeflenen; azalmış kolinergic aktiviteyi, ACh hidrolizini önleyerek artırmak suretiyle hastalığın semptomlarını iyileştirmektir (Brufani ve ark. 1997). Ayrıca kolinesterazların β amiloid plakların birikimi, tau fosforilasyonu ile nörofibriler yumakların oluşum mekanizmasında rolü olduğunun bulunması üzerine, bu inhibitörlerin söz konusu hastalık etkenlerini de önleyebileceği bildirilmiştir (Anand ve ark. 2014). İlaçlar, aynı zamanda büyüme faktörlerinin sentezini de artırmakta ve sinir hücrelerinin dejenerasyonunu azaltmaktadır (Rogers ve ark. 1998). Günümüzde Alzheimer hastalığının tedavisinde, AChE inhibitörleri (Tablo 2.3.1), belirli bir başarı oranının elde edildiği tek ilaç grubudur.

Tablo 2.3.1. Asetilkolinesteraz İnhibitörlerinin Farmakolojik Özellikleri

Özellikler	Takrin	Donepezil	Rivastigmin	Galantamin
Sınıf	Aminoakridin	<u>Piperidin</u>	Karbamat	Alkaloid
AChE İnhibisyonu	Reversible	<u>Reversible</u>	Psödo-irreversible	Reversible
	Non-kompetitif	<u>Non-kompetitif</u>	Non-kompetitif	Kompetitif
Doz (mg/gün)	80-160	<u>5-10</u>	6-12	16-24
Beyin AChE selektivite IC ₅₀ (nmol/L)	125	<u>33</u>	42	3,9
Serum BuChE selektivite IC ₅₀ (nmol/L)	7,2	<u>988</u>	54	18,6
BuChE/AChE selektivite	0,06	<u>30</u>	1,3	4,8
C _{max} (µg/L)	5,1 (10 mg) 20,7 (20 mg) 33,9 (30 mg)	<u>7,2 (5 mg)</u> <u>25,6 (10 mg)</u>	5,07 (2 mgx2) 14,1 (6 mgx2)	42 (12 mgx2) 137 (16 mgx2)
T _{max} (saat)	1-2	<u>3-5</u>	0,5-2	0,9-2
AUC (µg/L/h)	2-4	<u>539</u>	15,4 (3 mgx2)	1,1
T _½ (saat)	1,3	<u>50-80</u>	0,6-2	7-8
Biyoyararlılık (%)	17-37	<u>100</u>	35-40	100
Proteine bağlanma (%)	55	<u>96</u>	40	18
Klerens (L/h/kg)	2,42	<u>0,13</u>	1,5 (6 mg bid)	0,34
Vd (L/kg)	3,5-7	<u>14</u>	1,8-2,7	2,64
Sitokrom P 450 metabolizması	CYP1A2 CYP2D6	<u>CYP2D6</u> <u>CYP3A4</u>		CYP2D6 CYP3A4
Aktif metabolit	1-hidroksi takrin	<u>6-O-desmetildonepezil</u>	NAP 226-90	Sanguinin

(Bentué-Ferrer et al 2003; Giacobini 2000, 2006; Cacabelos ve ark. 2005; Cacabelos 2005a, b).

Donepezil, AH tedavisinde 2. kuşak asetilkolinesteraz inhibitörleri (rivastigmin, galantamin) arasında en çok tercih edilen ilaçtır (Bartus ve ark. 1982; Whitehouse ve ark. 1982). Fizostigmin ve takrin, 1. kuşak AChE inhibitörleri olarak tanımlanmış ancak bunlardan fizostigmin'in yarı ömrünün çok kısa (20 dak- 2 saat) olması ve ayrıca bilişsel işlevleri düzelteren dozlarında sıkça gastrointestinal yan etkilere yol açması nedeniyle (Davis 1998); takrin ise, AH için geliştirilmiş ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration; FDA) tarafından ilk onaylanmış ilaç olmasına karşın, hepatotoksik etkisinden dolayı günümüzde önemini yitirmişlerdir.

Günümüzde pek çok AChE inhibitörü, hafif ve orta şiddette AH için onaylanmışken donepezil, AH'nın tüm aşamaları için (hafif, orta, ileri) onaylanmış tek selektif AChE inhibitörüdür. Buna ilaveten, donepezil diğer kolinesteraz inhibitörlerine kıyasla; yarılanma ömrü uzun olduğundan günde bir kez uygulamayı mümkün kılması, santral AChE inhibisyonu için artırılmış özgüllük sayesinde artan tolerabilitesi, yiyeceklerin bu ilaç üzerinde önemli bir etkisinin olmaması ve diğer ilaçlarla etkileşiminin minimum düzeyde olması gibi, olumlu etkilere de sahiptir (Adlimoghaddam ve ark. 2018).

Donepezil'in Farmakolojik Etkileri: Donepezil, genellikle AChE inhibisyonu sayesinde hipokampüsteki sinaptik boşluklarda ACh konsantrasyonunu artırır (Kosasa ve ark. 1999). Donepezil, kortikal nöronlarda nikotinik reseptörleri upregüle ederek, nöroprotektif etki yapar (Kume ve ark. 2005).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada (Kosasa ve ark. 1999), 14 günlük donepezil uygulamasının ardından serebral ACh düzeyi % 35 oranında artmış ve AChE aktivitesi beyinde % 66 oranında, kanda ise % 32 oranında azalmıştır. Çalışmada, kolin asetiltransferaz aktivitesinde, veziküler asetilkolin transporter, kolin transporter ya da muskarinik reseptör düzeylerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Alzheimer hastalarında donepezil, uykunun REM dönemini, total uyku süresine oranla uzatır, uyku verimini artırır ve uykuya dalış süresini kısaltır (Mizuno ve ark. 2004; Moraes ve ark. 2006).

Muhtemelen hipotalamik düzeyde kolinerjik modülasyon ile donepezil, yaşlı erkeklerde bazal durumda büyüme hormonu salıverici hormon (GHRH)

stimülasyonunun ardından büyüme hormonu/İnsüline benzer Büyüme Faktörü-1 (GH/IGF-1) aksının yaşla ilişkili down regülasyonunu geri çevirebilir. Sağlıklı yaşlılarda, donepezil uygulamasının ardından GHRH'ın indüklediği büyüme hormonu (GH) yanıtının %50'den fazla oranda arttığı gözlemlenmiştir (Obermayr ve ark. 2005). Donepezil uygulamasının, büyüme hormonu salıverici faktör (GRF) GRF/GH aracılı nörotropik mekanizmanın aktivasyonuna katkıda bulunduğu ve dolayısıyla somatotropinerjik sistemin (GRF-GH-IGF aksı) geliştirilmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Cacabelos ve ark 1988a,b).

Yapılan çalışmalar, donepezil'in Alzheimer hastalığının patogeneğinde anahtar moleküllerden olan A β peptidin işlevini engellediğini ve agregasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir (Çakıroğlu 2009). Donepezil, kan beyin bariyerini kolayca geçebilen ve hepatotoksik yan etkileri bulunmayan bir ilaçtır (Sugimoto ve ark. 2002). Asetilkolinesteraz inhibitörleri arasında en az yan etkiye sahip ilaçlardan olması (Tablo 2.3.2) ve günde tek doz kullanım olanağının bulunması, donepezil'i kolinesteraz inhibitörleri arasında avantajlı kılmaktadır (Wilkinson ve Murray, 2001).

Tablo 2.3.2. Asetilkolinesteraz İnhibitörlerinin Yan Etkileri

Advers Etkiler	Takrin	<u>Donepezil</u>	Rivastigmin	Galantamin
Bulantı	3+	3+	3+	2+
Kusma	2+	2+	2+	2+
Diyare	2+	2+	2+	1+
Baş dönmesi	2+	1+	2+	1+
Baş ağrısı	1+	0	1+	0
Karın ağrısı	1+	0	1+	0
Anoreksi	2+	1+	1+	0
Bradikardi	0	0	0	0
Yorgunluk	0	1+	1+	1+
Kas krampları	0	1+	0	0
Ajitasyon	2+	1+	0	1+
Diskrazi	0	0	0	0
Karaciğer disfonksiyonu	3+	0	0	0

(Cacabelos ve ark. 2005; Cacabelos 2005a,b; Bentue-Ferrer ve ark. 2003; Giacobini 2000,2006)

Donepezil'in Farmakokinetik Özellikleri: Donepezil, gastrointestinal sistemden yavaş absorbe olur. Oral biyoyararlanımı tamdır (% 100). Maksimum plazma seviyelerine, oral alımdan yaklaşık 3-4 saat sonra ulaşılır. Plazma konsantrasyonları ve eğri altında kalan alan (EAA), dozla orantılı olarak artmaktadır. İlacın yarılanma ömrü yaklaşık 70 saat olduğundan, düzenli olarak günde tek doz alınması suretiyle, ilaçla tedaviye başlandıktan sonra, 2-3 hafta içinde yaklaşık kararlı duruma ulaşılır (Ohnishi ve ark. 1993). Donepezil'in emilimi besinlerden etkilenmemektedir. Donepezil yaklaşık olarak % 96 oranında plazma proteinlerine (% 75 albümin, 5 21 α -asid glikoproteine) bağlanır (Heydorn 1997). Primer olarak hepatic sitokrom oksidazlardan CYP2D6 ve CYP3A4 ile metabolize edilir ve büyük ölçüde ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Donepezil'in majör metabolitleri, 6-O-desmetildonepezil ve donepezil-cis-N-oksiddir. Bunlardan ilki aktif metabolit olup, ilaç ile eşit etkinliğe sahiptir. Alınan donepezil hidroklorür dozunun yaklaşık % 57'si idrarla atılırken, % 14,5'i dışkı ile atılmakta olup, % 17'si değişmemiş donepezildir, bu da biyotransformasyon ve idrarla itrahın, esas atılım yolları olduğunu göstermektedir (Jann ve ark. 2002).

Ülkemizde donepezil içeren preparatlar, film tablet ve ağızda dağılan tablet formlarında bulunmaktadır. Bazı mevcut donepezil içeren ticari preparat şekilleri, dozları ve üretici firmaları aşağıda Tablo 2.3.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3.3. Türkiye'de Donepezil Etken Maddesini İçeren Ticari Müstahzarlardan Bazıları

Ticari ismi	Farmasötik Formu/Dozajı	Firma ismi
Alzamed	5 ve 10 mg Film Tablet	World Medicine
Alzil	5 ve 10 mg Film Tablet	Deva
Aricept/Evess	5 ve 10 mg Film Tablet /Ağızda Dağılan Tablet	Pfizer
Dement	5 ve 10 mg Film Tablet	Ali Raif
Dezira	5 ve 10 mg Film Tablet	İlko
Doenza/ODT	5 ve 10 mg Film Tablet /Ağızda Dağılan Tablet	Sanovel
Dozyl	5 ve 10 mg Film Tablet /Ağızda Dağılan Tablet	Abdi İbrahim
Neurem	5 ve 10 mg Film Tablet	ULM

(RxMediaPharma 2019)

Dozu: Yetişkinler/yaşlılarda, tedaviye günde tek doz 5 mg ile başlanır. İlaç, oral olarak, günde tek doz ve gece yatmadan hemen önce alınmalıdır. Tedaviye verilecek en erken klinik yanıtların alınması ve donepezil hidroklorürün kararlı durum konsantrasyonlarına ulaşabilmesi için 5 mg/gün'lük doza en az bir ay süreyle devam edilmelidir. Bir ay süreyle günde 5 mg dozun sağladığı klinik cevabın değerlendirilmesi ile ilacın dozu, günde tek doz 10 mg'a yükseltilebilir. Tedaviye ara verilmesi durumunda donepezil'in yararlı etkilerinde aşamalı bir azalma görülür. Tedavinin aniden kesilmesinden sonra herhangi bir "rebound" etki veya geri çekilme etkisi ile karşılaşılmamıştır.

Daha önceki randomize çalışmalarda donepezil 5 mg/gün, donepezil 10 mg/gün ve plasebo denendiğinde, AH'da 10 mg/gün dozunun hastalığın evrelerinden bağımsız olarak hastalarda kognitif iyileşme sağladığı tespit edilmiştir; hatta kolinesteraz aktiviteyi maksimum düzeyde baskılayabilmek için daha yüksek dozların daha fazla yarar getirebileceği düşünülmüştür (Sabbagh ve Cummings 2011). Nitekim standart doz olarak kabul edilen günlük 10 mg donepezil uygulaması, total kortikal kolinesteraz aktivitesinin yalnızca % 20-40'ını inhibe edebilmektedir (Kuhl ve ark. 2000; Boehnen ve ark. 2005; Sabbagh ve Cummings 2011). Yapılan pilot bir çalışmada, günde 10 mg donepezil kullanan hafif ve orta şiddette Alzheimer hastalarına, 20 mg donepezil verilmesinin güvenli olduğu ve hastalar tarafından iyi tolere edildiği tespit edilmiştir (Doody ve ark. 2008). Yapılan bir Faz III klinik çalışmada, 6 aylık deneme sonucunda orta ve ileri düzey Alzheimer hastalığının semptomatik farmakolojik tedavisinde kognitif düzelmenin 23 mg/gün donepezil dozu ile, 10 mg/gün'e göre daha anlamlı olduğu gösterilmiş olup, bu dozun, mide bulantısı, baş dönmesi, baş ağrısı gibi kolinerjik yan etkiler açısından en güvenilir yüksek doz olduğu bildirilmiştir. Donepezil'in 23 mg/gün'lük dozu FDA tarafından onaylanmıştır (Farlow ve ark. 2010).

Yüksek doz (23 mg/gün) donepezil kullanması gereken orta ve ileri seviye Alzheimer hastalarına, hastanın güvenliği açısından ilk 4 hafta boyunca doz titrasyonu yapılması tavsiye edilebilir (Hong ve ark. 2019).

Orta ve ileri derece Alzheimer hastaları iki gruba ayrılarak yapılan bir çalışmada, bir gruba günde 10 mg sabit doz verilirken diğer gruba günde 23 mg'a kadar artan dozlarda ilaç uygulanmış ve sonuçta, 23 mg/gün uygulanan gruptaki ileri

kognitif bozukluğu olan hastalarda daha fazla iyileşme tespit edilmiştir. Üstelik Mini-Mental Durum Testi puanlaması düşük olan hastalarda daha belirgin kognitif düzelme görülmüştür (Ferris ve ark. 2013; Sabbagh ve ark. 2013).

Yan Etkileri: Donepezil ile tedavi edilen hastaların % 5'inden çoğunda sıkça rastlanan yan etkiler şöyledir; kardiyovasküler problemler (% 18), sindirim sistemi düzensizlikleri (% 34), kan ve lenf doku değişiklikleri (% 5), metabolik ve beslenme ile ilgili değişiklikler (% 6), kas-iskelet sistemi problemleri (% 17), solunum sistemi komplikasyonları (% 22), ürogenital sistemle ilgili problemler (% 24) ve santral sinir sistemi ile ilgili ajitasyon, insomnia, konfüzyon, depresyon, anksiyete, baş dönmesi, vertigo, baş ağrısı, huzursuzluk ve halüsinasyon gibi sorunlar (% 52) (Bryson ve Benfield 1997, Rogers 1998, Doody 1999, Nordberg ve Svensson 1998, Wilkinson 1999, Dunn ve ark. 2000, Greenberg ve ark. 2000, Rogers ve ark. 2000, Bentue-Ferrer ve ark. 2003, Jackson ve ark. 2004, Courtney ve ark. 2004, Johannsen ve ark. 2006). Yapılan araştırmalarda, donepezil kullanan hastaların lipit profillerinin de değişebileceği gösterilmiştir. Donepezil kullanan hastalarda, kullanmayanlara göre trigliserit, kolesterol, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol düzeylerinin önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Adunsky ve ark. 2004).

Son dönemlerde donepezil'in oral kullanımında oluşan mide bulantısı ve diyare (Ruela ve ark. 2016) gibi olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak ve ayrıca beyin penetrasyonunu artırmak (Ebrahimi Shahmabadi ve ark. 2014) amacıyla hidrojel tabanlı ilaç taşıyıcı sistem ile ilacın nazal yoldan uygulanmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Harthi ve ark. 2019).

İlaç Etkileşimleri: Donepezil, serotonin reuptake inhibitörleri (SSRI; sertralin, fluoksetin) ve trisiklik antidepresanlarla, antipsikotiklerle (olanzapin), antihistaminiklerle, nöroleptiklerle etkileşime girebilmektedir. Özellikle kolinesteraz inhibitörleri ile beraberinde kullanılan diğer ilaçlar (antidepresanlar, nöroleptikler, antiaritmikler, analjezik ve antiemetikler) arası olası etkileşim oldukça önemlidir (Bernard ve ark. 2006).

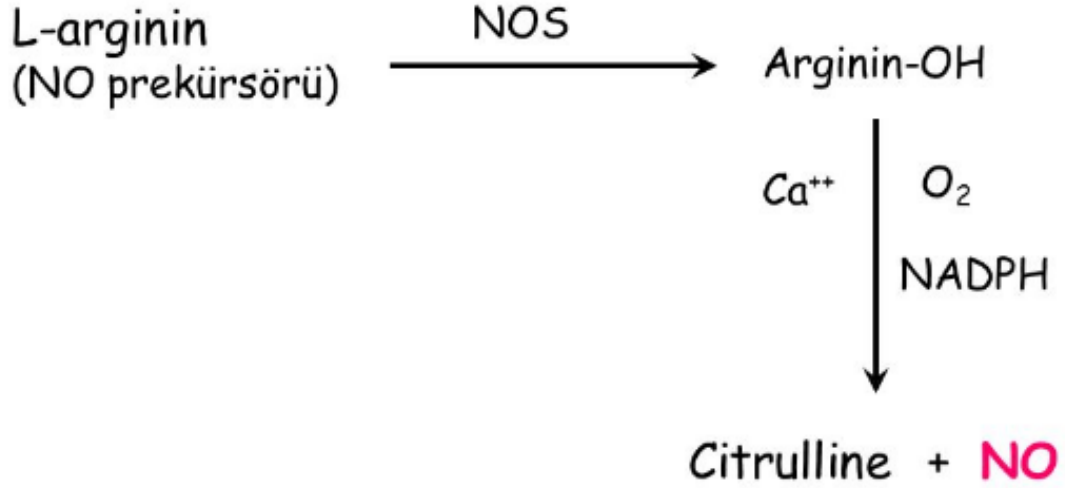
Donepezil, antipsikotiklerle (risperidon) beraber uygulandığında ekstrapiramidal semptomları şiddetlendirebilir. Bazı histamin H₁ reseptör antagonistlerinin ya da trisiklik antidepresanların antikolinerjik aktiviteleri, donepezil'in etkisini antagonize edebilir. Donepezil'in gebelik kategorisi C'dir.

2.4. Nitrik Oksit

Endotel kaynaklı nitrik oksit (NO), vasküler tonusu düzenleyen önemli bir faktördür. Nitrik oksidin fonksiyonu ilk defa, 1980 yılında Furchgott ve Zawadski tarafından, izole arter preparatlarında ACh'e bağlı gevşeme esnasında gösterilmiştir. O yıllarda endotele bağlı gevşetici faktör (EDRF) olarak isimlendirilen bu maddenin; Palmer ve arkadaşları 1987 yılında, NO olduğunu ortaya koymuşlardır.

Biyosentezi: Nitrik oksit, L-arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile oluşmaktadır (Şekil 2.4.1). Reaksiyonun sonunda NO ile birlikte L-Sitrulin oluşmaktadır. Nitrik oksit'in sentezlendiği reaksiyonda ko-faktör olarak flavin mono nükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmodülin (CaM), tetrahidrobiopterin (BH₄), ko-substrat olarak ise nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve oksijen (O₂) kullanılmaktadır. Reaksiyon sırasında oluşan sitrulin, endotel hücre kültüründe yapılan çalışmalar sonucunda üreden gelen bir azot atomunun eklenmesiyle L-arjinin'e geri dönüşmektedir. Bu şekilde üretilen NO, hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından hızla nötralize edilir ve 10 sn gibi kısa bir süre içerisinde nitrit ve nitratlara dönüştürülür (Mizutani ve Layon, 1996).

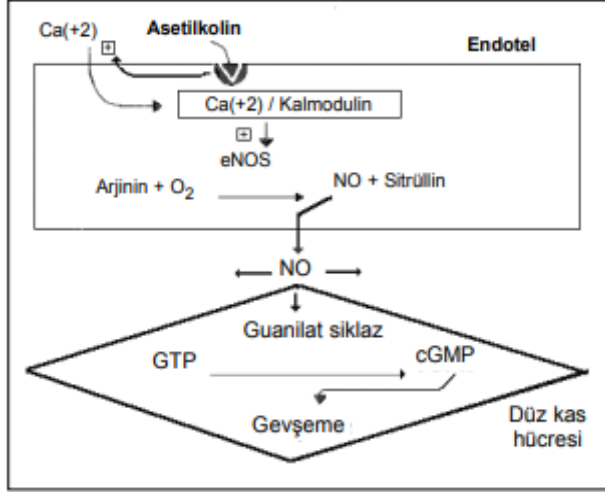
Nitrik oksit, sadece damar endotel hücrelerinde değil, ayrıca serebellum ve ön beyindeki nöronlarda, nötrofil lökositlerde, böbrek tubulus epitel hücrelerinde, adrenal medulla hücrelerinde, mast hücrelerinde ve bazı otonom sinirlerin uçlarında da sentezlenip salıverilir. Nitrik oksit'in diğer nörotransmitterlerden farkları vardır; sinaptik veziküllerde bulunmaz, ekzositozla terminallerden salınmaz ve depolanmaz, bir nörondan diğer bir nörona difüze olabilir. Stimülasyonla salınır ve nöronal hücrelerde enzim ve diğer maddeleri etkiler.



Şekil 2.4.1. Nitrik Oksit Biyosentezi

Nitrik Oksit'in Fizikokimyasal Özelliği: Nitrik oksit, iki atom içeren, 30 g/mol molekül ağırlığında, kaynama noktası; -151 °C olan bir moleküldür. Hem yağda hem suda iyi çözüldüğünden biyolojik membranlardan rahatlıkla difüze olur. Üç-beş saniye arasında çok kısa yarılanma ömrüne sahip gaz fazında bir maddedir. Basit kimyasal yapısına rağmen oldukça farklı ve zıt yönde etkilere sahiptir (Lancaster 2000).

Damarlar Üzerine Etkisi: Nitrik oksit, damarlarda güçlü gevşetici etkiye sahiptir. Bu etkisine, guanilat siklaz aktivasyonu aracılık eder. Hücre içinde ikinci ulak cGMP artışı, intraselüler Ca^{2+} düzeyinde azalmaya neden olan farklı mekanizmalarla düz kas hücrelerinde gevşeme oluşturmaktadır (Şekil 2.4.2). Bu azalma, aktinomyozin ATPaz etkinliğinin düzenlenmesinde görevli miyozin hafif zincir kinaz (MLCK)'ını fosforile eden cGMP bağımlı protein kinazın aracılık ettiği, farklı bir takım reaksiyonlarla gerçekleştirilir (Hathaway ve ark. 1985).



Şekil 2.4.2. Damar Endotel Hücrelerinde NO Oluşumu ve Etki Mekanizması (Çekmen ve ark. 2001).

Nitrik oksit Sentaz (NOS) İnhibitörleri: Nitrik oksit'i inhibe eden ajanlar iki grupta sınıflandırılır; L-Arginin Analogları: L-NMMA (monometil-L-arginin), L-NA (nitro-L-arginin), L-NAME (nitro-L-arginin metil esteri).

L-Arginin analogu olmayanlar: 7-NI (7-nitroindazol), L-NIO (iminoetil-L-ornitin), N- (1-iminoetil)-L-lizin, merkaptoetilguanidin, L-kanavanin ve aminoguanidindir (Wong ve Lerner 2015).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deneysel Prosedür

Çalışmada Konya Akşeker Kurumunda kesimi yapılan iki yaşın altındaki danalardan alınan kalpler soğuk Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde laboratuvara getirildi. Kalplerden kardiyak ven izole edilerek, bağ dokusundan temizlenen venlerden, 2-3 mm genişliğinde halka şeklinde preparatlar hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan preparatlar, 37 °C'de ısıtılan, Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ karışımı ile sürekli gazlandırılan 15 ml'lik organ banyolarına asıldı. Preparatlara 1g dinlenme gerilimi uygulandı ve 15 dk ara ile besleyici solüsyonla yıkamak suretiyle 60 dk süreyle dinlenmeye bırakıldı. İlaçlara verilen cevaplar bir transduser (BIOPAC MP36, Santa Barbara, California, USA) aracılığı ile izometrik olarak (Commat, Ankara, Turkey) kaydedildi. Çalışmanın başında halkaların endotel tabakasının bütünlüğü, serotonin (5-HT, 10⁻⁶ M)'e bağlı kasılma cevabının ardından ACh (10⁻⁶ M)'e gevşeme cevabı alınmasıyla test edildi.

Deneyslerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği (mM) olarak şöyledir: NaCl 119; KCl 4.7; MgSO₄ 1.5; KH₂PO₄ 1.2; CaCl₂ 2.5; NaHCO₃ 25; glukoz 11.

Çalışmanın ilk aşamasında, donepezil'in dana kardiyak ven halkasında bazal tonus üzerine etkisi araştırıldı. Bu amaçla, bazal tonus düzeyinde dokulara kümülatif tarzda (10⁻⁹ - 3x10⁻⁴ M) donepezil ilave edildi. Çalışmanın diğer bölümünde, karbakol (10⁻⁶ M) ilavesiyle dokular kasıldı ve maksimum kasılma elde edildikten sonra, banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda donepezil ilave edildi. Donepezil doz-cevap eğrisi elde edildikten sonra dokular Krebs-Henseleit solüsyonu ile yıkanarak 90 dk süreyle dinlendirildi.

Çalışmanın bir diğer aşamasında dokular, normal sıcaklıkta 10⁻⁶ M karbakol ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı 28 °C'ye ayarlandı, dokular bu sıcaklıkta 60 dk süreyle dinlendirildikten sonra banyo ortamına, kümülatif konsantrasyonda donepezil ilave edildi. Çalışmada ayrıca, donepezil ile elde edilen gevşeme cevaplarına endojen nitrik oksidin olası rolü, her iki sıcaklıkta da araştırıldı. Bu amaçla, dokular normal sıcaklıkta 10⁻⁶ M karbakol ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo ortamına NO sentez inhibitörü N^G-nitro-arjinin-metil-ester

(L-NAME, 10^{-4} M) ilave edildi ve bu ajanla 20 dk inkübasyonun ardından, kümülatif konsantrasyonda ilave edilen donepezil'e verilen cevaplar kaydedildi.

Çalışmanın son bölümünde ise, kardiyak ven halkaları normal temperatürde 10^{-6} M karbakol ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo ısısı 28 °C'ye ayarlandı, dokular bu temperatürde yine 60 dk süreyle dinlendirildikten sonra, banyo ortamına L-NAME ilave edildi ve 20 dk inkübasyonu takiben kümülatif konsantrasyonda uygulanan donepezil cevapları kaydedildi.

Çalışmada her bir grupta n sayısı 6 olarak belirlenmiştir.

3.2. İstatistiksel Yöntemler

Donepezil ile elde edilen gevşeme cevapları karbakol ile elde edilen kasılmanın % inhibisyonu şeklinde gösterildi. Maksimum gevşeme cevabının % 50'sini oluşturan donepezil konsantrasyonu (IC_{50}) her bir konsantrasyon-cevap eğrilerinden sırasıyla, 37, 28 ve her iki temperatürde de L-NAME varlığında elde edilerek pIC_{50} değerleri hesaplandı. Çalışmada elde edilen değerler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiş olup, ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student'in t testi ile saptandı. Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde ise eşleştirilmemiş test uygulandı. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.3. Kullanılan İlaçlar

Deneyleerde, karbakol (Sigma), asetilkolin (Sigma), L-NAME (Sigma) ve donepezil (İlko) kullanıldı. Donepezil'in stok solüsyonu dimetil sulfoksid (DMSO) içerisinde, kullanılan diğer ilaçların stok solüsyonları ile donepezil de dahil alt dilüsyonları, distile suda hazırlandı.

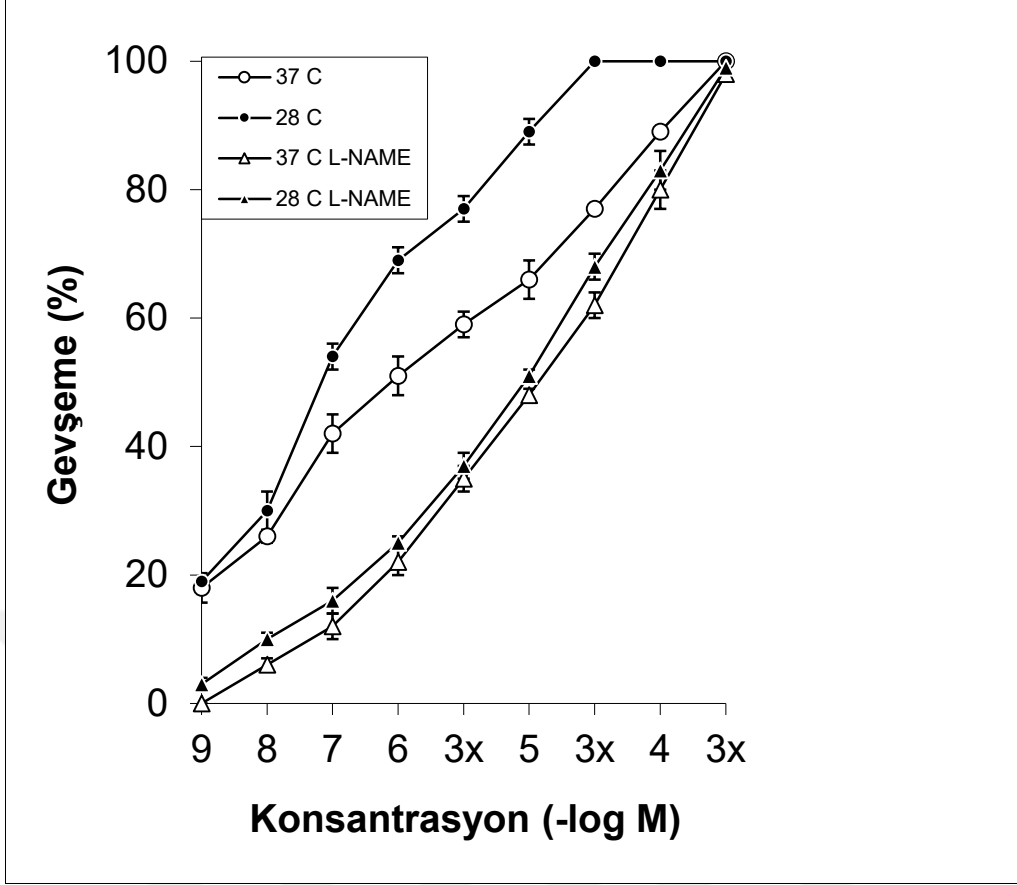
4. BULGULAR

Karbakol ile kardiyak ven halkalarında, tekrarlanabilir nitelikte ve zamana bağlı değişiklik göstermeyen kasılma cevapları alındı. İzole ven halkalarının bazal tonusu üzerine donepezil'in etkilerinin araştırıldığı bölümde, kümülatif konsantrasyonda organ banyosuna uygulanan donepezil (10^{-9} - 3×10^{-4} M), dokuların bazal tonusunu etkilemedi.

Karbakol (10^{-6} M) ilavesiyle 37 °C'de elde edilen kasılma cevapları maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra, banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda ilave edilen donepezil (10^{-9} - 3×10^{-4} M), konsantrasyona bağlı gevşeme cevapları oluşturdu (Şekil 4.1). 37 °C'de, donepezil'e ait pIC_{50} değeri 5.66 ± 0.11 olarak bulundu.

Donepezil'e verilen gevşeme cevaplarına soğutmanın etkisini araştırmak amacıyla yapılan ikinci bölümde, dokular normal temperatürde 10^{-6} M karbakol ilavesiyle kasıldıktan sonra, banyo ısı 28 °C'ye düşürülerek, banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda ilave edilen donepezil'e ait pIC_{50} değeri 7.30 ± 0.02 olarak bulunmuş olup, bu değer 37 °C'de elde edilen değere kıyasla anlamlı olarak yüksektir ($p < 0.05$).

Donepezil'e verilen cevaplara nitrik oksit sentez inhibitörü L-NAME'in etkisini araştırmak amacıyla yapılan deneylerde, ortama ilave edilen 10^{-4} M konsantrasyonda L-NAME ile 20 dk inkübasyonu takiben, uygulanan donepezil'e ait pIC_{50} değeri 5.03 ± 0.48 olarak bulunmuştur. 28 °C'de, L-NAME varlığında ise donepezil'e ait pIC_{50} değeri 5.01 ± 0.86 olarak bulunmuş olup, her iki temperatürde de donepezil gevşeme cevapları, L-NAME ile inkübasyondan anlamlı olarak etkilenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.1. Karbakol ($10^{-6} M$) ile kasılan dana kardiyak veninde donepezil (10^{-9} - $3 \times 10^{-4} M$) ile elde edilen gevşeme cevapları

5. TARTIŞMA

İzole dana kardiyak veninde yapılan bu çalışmada, donepezil'e verilen cevaplar ve bu cevaplara temperaturün etkisi araştırılmış, ayrıca NO sentez inhibitörü varlığında cevapların ne şekilde değiştiğinin belirlenmesine çalışılmıştır.

Dana kardiyak veni, henüz kesimi yapılmış hayvanlardan alınan kalplerden kolaylıkla temin edilebilen bir doku olmasına karşın, üzerinde çok sayıda çalışma yapılmamış bir derin damar olması, temperatürle ilgili araştırmalarda çoğunlukla yüzeysel damarların (Bailey ve ark. 2004, Jantschak ve ark. 2010), kullanılmış olması, bu çalışmayı orijinal kılmaktadır.

Karbakol (Karbamilkolin), belirgin muskarinik ve nikotonik etkisi olan, kolinomimetik bir ajandır. Eglen ve Whiting (1990), domuz ve sığır koroner arterlerinde yaptıkları çalışmalarda karbakol'ün, muskarinik reseptörlerin M₃ alt tipini aktive ederek damar düz kasında, kasılma cevabı oluşturduğunu belirtmişler, farklı çalışmalarda da karbakol'e bağlı bu cevaplarda, hem ekstraselüler ortamdan hücre içine giren Ca²⁺, hem de intraselüler depolardan salıverilen Ca²⁺ iyonlarının rol oynadığı rapor edilmiştir (Karabacak ve Doğan 1996).

Bir AChE inhibitörü olan donepezil, bütün dünyada AH tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Donepezil'in vasküler etkileri konusunda çok az veri mevcuttur. Kronik tedavi sonucu hastalarda bu AChE inhibitörünün bölgesel serebral kan akımını koruduğu ve hatta sıçan serebral parenkimal arteriyollerinde nNOS'ı selektif olarak aktive ederek akut vazodilatasyon oluşturduğu gösterilmiştir (Nakahata ve ark. 2008). Ancak donepezil'in damar düz kasına akut etkisi, sıçan serebral arterlerinde yapılan sözü edilen çalışma ile kısıtlıdır.

Alzheimer hastalığında sistemik vasküler patolojiler mevcut olup; bunlar endotel fonksiyonunda değişiklik (Algotsson ve ark. 1995; Hachinski ve Munoz 1997), kan basıncı değişiklikleri (Morris ve ark. 2000) ve kutanöz vazodilatasyon şeklindedir. Alzheimer hastalarında Aβ düzeyi artar ve senil plakların bu major bileşeni, serebral kan damarlarında ACh'e bağlı endotel aracılı gevşemenin azalmasına neden olur (Price ve ark. 2001). Donepezil tarafından vasküler cevabın artışı ve endotel hücreler üzerine Aβ'nın toksik etkilerinin kısmen ortadan kaldırılması, bu AChE inhibitörü ile tedavi gören hastalarda kognitif fonksiyonlar

üzerine olumlu etki yapar (Maltz ve ark. 2004). Donepezil tedavisi gören Alzheimer hastalarında kutanöz vazodilatör cevaplarda artış gözlemlendiği de kolun ön kısmında laser Doppler görüntüleme ile kaydedilmiştir (Maltz ve ark. 2004). Bu çalışmada donepezil, kardiyak ven halkalarının bazal tonusunu etkilememiştir. Kümülatif konsantrasyonda uygulanan donepezil, karbakol ilavesiyle oluşan kasılma cevaplarını konsantrasyona bağlı olarak inhibe etmiştir.

Çalışmada donepezil'e verilen gevşeme cevaplarına soğutmanın etkileri de araştırılmış olup, soğutma esnasında donepezil'e duyarlılığın, 37 °C'ye kıyasla anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Literatürde, damar düz kasında donepezil ile elde edilen gevşeme cevaplarına sıcaklığın etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Farklı ajanlarla elde edilen cevaplara sıcaklığın rolünün araştırıldığı çalışmalarda ise, elde edilen sonuçlar çelişkili olup; Fernández ve ark. (1994), yüzeysel bir damar olan tavşan kulak arterinde histamin ilavesiyle elde edilen gevşeme cevabının soğutma esnasında arttığını, derin bir damar olan femoral arterde ise değişmediğini rapor etmişlerdir. Monge ve ark. (1993) da, soğutma esnasında kolinerjik stimülasyona verilen gevşeme cevaplarının, izole femoral arterde değişmezken, tavşan kulak arterinde arttığını raporlamışlardır. Bir başka çalışmada ise, umbilikal arterde (Tiritilli 2000), ATP'ye duyarlı bir potasyum (K⁺) kanal açıcı ajan olan nikorandil, kobay myokardı ve aortasında (Saito ve ark. 1998) da nikorandille benzer etki mekanizmasına sahip ajanlar olan NIP-121, kromakalim ve pinasidil ile elde edilen gevşeme cevaplarının, soğutmaya bağlı olarak azaldığı bildirilmiştir. İzole sıçan pulmoner arter ve aort preparatlarında yapılan çalışmalarda soğutma, gevşeme cevaplarını hızla artırmıştır (Mustafa ve Thulesius 2001b).

Herrera ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada, damar yatağının yapısal özelliklerinin de soğutmanın etkisini değiştirebildiğini belirtmişlerdir. Belirtilen bulgulara dayanarak, izole organlarda soğutma esnasında cevapların, çalışılan türe, dokuya ve hatta kullanılan ajanlara bağlı olarak değişebildiğini söylemek mümkündür.

Nitrik oksit, endotel hücrelerde L-arjinin amino asidinden NO sentaz enzimi aracılığı ile sentezlenir ve düz kas hücrelerinde guanilat siklaz enzimini aktive ederek hücre içi cGMP konsantrasyonunun artışı ile gevşemeye neden olur (Lowenstein ve ark.1994). Normal endotelde ACh'in, NO salınımını uyararak vazodilatasyon ve kan akımı artışına neden olduğu bilinmektedir. Shih ve arkadaşları (2020)'nin da

belirttikleri gibi AChE inhibitörleri ACh'e bağılı endotelial NO saliverilmesini artırabilirler. Literatürde, *in vitro* çalışmalarda temperatur değişikliklerinin NO üretimini, çalışılan damar yatağına ve kullanılan ajanlara bağılı olarak farklı şekillerde etkileyebileceğı belirtilmiştir (Bodelsson ve ark. 1991, Herrera ve ark. 2000). Nitekim soğutma, NO saliverilmesinde artışa bağılı olarak, tavşan kulak arterinde kolinerjik stimülasyona verilen cevabı artırırken (Garcia-Villalon ve ark. 1995), endotelin-1 (ET-1)'e (Monge ve ark. 1991) ve adrenerjik aktivasyona kasılma cevaplarını azaltmıştır (Garcia-Villalon ve ark. 1992). Bu çalışmada, donepezil'e verilen cevaplarda damar endotelinden saliverilen güçlü bir vazodilatör ajan olan NO'in rolü her iki temperaturde de araştırılmış olup, NO sentez inhibitörü L-NAME varlığında, donepezil pIC₅₀ değerleri kontrole göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur, bu da donepezil'e bağılı cevaplarda NO'in rolü olduğunu vurgulamaktadır. Literatürde, donepezil ile elde edilen gevşeme cevaplarına soğutmanın etkisinde NO'in rolü konusunda herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada, bir AChE inhibitörü olan donepezil'in kardiyak ven preparatlarının bazal tonusunu etkilemediği, karbakol ile ön kasılma oluşturulan dokularda ise, konsantrasyona bağlı gevşeme oluşturduğu gözlenmiş, temperaturün damar düz kasının donepezil'e duyarlığında etkili bir faktör olduğu ve donepezil'e bağlı gevşemelerde damar endotelinden salıverilen NO'nin rolü olduğu saptanmıştır.

Donepezil'e verilen cevaplarda soğutmaya bağlı gözlenen bu değişikliklerde rolü olabilecek farklı mekanizmaların incelenmesi amacıyla daha ileri araştırmalar yapılabilir.



7. KAYNAKLAR

- Adlimoghaddam A, Neuendorff M, Roy B, Albeni BC. A review of clinical treatment considerations of donepezil in severe Alzheimer's disease. 2018 John Wiley & Sons Ltd. *CNS Neurosci Ther.* 2018;24: 876–88.
- Adunsky A, Chesnin V, Ravona R, et al. 2004. Plasma lipid levels in Alzheimer's disease patients treated with donepezil hydrochloride: a cross-sectional study. *Arch Gerontol Geriatr*, 38: 61–8.
- Alaşehirli B. Kolinesteraz İnhibitörleri (Antikolinesterazlar) Türkiye Klinikleri *J Int Med Sci.* 2005;1(18):47-57.
- Algotsson A, Nordberg A, Almkvist O, Winblad B. Skin vessel reactivity is impaired in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995;16(4):577–82
- Anand R, Gill KD, Mahdi AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology.* 2014 Jan;76 Pt A:27-50.
- Bailey SR, Eid AH, Mitra S, Flavahan S, Flavahan NA. Rho kinase mediates cold-induced constriction of cutaneous arteries: role of alpha2C-adrenoceptor translocation. *Circ Res.* 2004 May 28;94(10):1367-74. Epub 2004 Apr 15.
- Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, et al. 1982. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217:408–17.
- Bear MF, Connors BW, Paradiso MA, Lippincott William & Wilkins, Baltimore, 22-49, (2001) 791-95.
- Bentue-Ferrer D, Tribut O, Polard E, et al. 2003. Clinically significant drug interactions with cholinesterase inhibitors. *CNS Drugs*, 17: 947–63.
- Bernard S, Neville KA, Nguyen AT, et al. 2006. Interethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6 in the U.S. population: Clinical implications. *Oncologist* 11: 126–35.
- Bodelsson M, Arneklo-Nobin B, Chester AH, Tadjkarimi S, Törnebrandt K, Yacoub M. Differential effect of hypothermia on the vascular tone and reactivity of human coronary artery and graft vessels. *J Cardiovasc Surg* 1991; 288-94.
- Boehnen NI, Kaufer DI, Hendrickson R, Ivanco LS, Lopresti BJ, Koeppe RA, et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005; 76: 315–19.
- Brufani, M., Filocamo, L., Lappa, S., Maggi, A., New acetylcholinesterase inhibitors, *Drugs Of The Future*, 22 (4), 397-410 (1997).
- Bryson HM, Benfield P. 1997. Donepezil. *Drugs Aging*, Mar;10(3):234-39.
- Cacabelos R, Niigawa H, Ikemura T, et al 1988a. GHRH- induced GH response in patients with senile dementia of the Alzheimer type. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 117:295–301.
- Cacabelos R, Niigawa H, Rodriguez-Arno MD, et al. 1988b. Influence of somatostatin and growth hormone-releasing factor on behavior Clinical and therapeutic implications in neuropsychiatric disorders. *Horm Res*, 29:129–32.

- Cacabelos R, Fernandez-Novoa L, Lombardi V, et al. 2005. Molecular genetics of Alzheimer's disease and aging. *Genomic Medicine Series. Part 1. Meth Find Exper Clin Pharmacol*, 27 (Suppl A):1–573.
- Cacabelos R, 2005a Pharmacogenomics and therapeutic prospects in Alzheimer's disease. *Exp. Opin. Pharmacother*, 6: 1967–87.
- Cacabelos R, 2005b. Pharmacogenomics, nutrigenomics and therapeutic optimization in Alzheimer's disease. *Aging Health*, 1: 303–48.
- Caufield M. Muscarinic receptors characterization, coupling and function. *Pharmacol Ther* 2003; 58: 319-79.
- Courtney C, Farrell D, Gray R, et al. 2004. Long-term donepezil treatment in 565 patients with Alzheimer's disease (AD2000): randomised doubleblind trial. *Lancet*, 363:2105–15.
- Cummings JL, Geldmacher D, Farlow M, Sabbagh M, Christensen D, Betz P; for the Donepezil 23 mg Expert Working Group. High-dose donepezil (23 mg/day) for the treatment of moderate and severe Alzheimer's disease: drug profile and clinical guidelines. *CNS Neurosci Ther* 2013;19: 294–301.
- Çakıroğlu G., AChE inhibitörleri olarak bazı piridin türevleri üzerinde sentez ve biyoaktivite çalışmaları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye (2009).
- Çekmen M. B., Turgut M., Türköz Y., Aygün A. D., Gözükara E. M.. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *T Klin Pediatri* 2001, 10,226-36.
- Davis KL (1998) Future therapeutic approaches to Alzheimer's Disease. *J Clin Psychiatry*, 59 (Suppl 11): 14-16.
- Doody RS. 1999. Clinical profile of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease. *Gerontology*, 45 (Suppl 1):23–32.
- Doody Rs, Corey-Bloom J, Zhang R, Li H, Ieni J, Schindler R. Safety and tolerability of donepezil at doses up to 20 mg/day: results from a pilot study in patients with Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 2008; 25: 163–74.
- Dunn NR, Pearce GL, Shakir SA. 2000. Adverse effects associated with the use of donepezil in general practice in England. *J Psychopharmacol*, 14: 406–8.
- Ebrahimi Shahmabadi, H. et al. Efficacy of Cisplatin-loaded polybutyl cyanoacrylate nanoparticles on the glioblastoma. *Tumor Biology* 35, 4799–806 (2014).
- Eglen RM, Whiting RL. Heterogeneity of vascular muscarinic receptors. *J Auton Pharmacol* 1990; 19: 233-45.
- Farlow Mr, Salloway S, Tariot Pn et al. Effectiveness and tolerability of high-dose (23 mg/d) versus standarddose (10 mg/d) donepezil in moderate to severe Alzheimer's disease: a 24-week, randomized, double-blind study. *Clin Ther* 2010; 32: 1234–51.
- Fernández N, García-Villalón AL, Borbujo J, Monge L, García JL, Gómez B, Diéguez G. Cooling effects on the histaminergic response of rabbit ear and femoral arteries: role of the endothelium. *Acta Physiol Scand*. 1994 Aug;151(4):441-51.
- Ferris S, Cummings J, Christensen D, Doody R, Farlow M, Sabbagh M, et al. Effects of donepezil 23 mg on severe impairment battery domains in patients with moderate to severe Alzheimer's disease: evaluating the impact of baseline severity. *Alzheimers Res Ther*. 2013;5: 12.

- Francis, P.T., Palmer, A.M., Snape, M., Wilcock, G.K. The Cholinergic Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Review of Progress, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, (1999) 66, 137-47.
- Furchgott RF, Zawadski JV. The Obligatory Role of Endothelial Cells in the Relaxation of Arterial Smooth Muscle by Acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-76.
- Garcia-Villalon AL, Monge L, Montoya JJ, Garcia JL, Fernandez N, Gomez B, Dieguez G. Cooling and response to adrenoceptor agonists of rabbit ear and femoral artery: role of the endothelium. *Br J Pharmacol* 1992; 106: 727-32.
- Garcia-Villalon AL, Fernandez L, Monge L, Garcia JL, Gomez B, Dieguez G. Role of nitric oxide and potassium channels in the cholinergic relaxation of rabbit ear and femoral arteries: effects of cooling. *J Vasc Res* 1995; 32: 387-97.
- Giacobini E. 2000. Cholinesterases and cholinesterase inhibitors. Martin Dunitz, London.
- Giacobini E. 2006. Cholinesterases in human brain: the effect of cholinesterase inhibitors on Alzheimer's disease and related disorders. In Giacobini E, Pepeu G (eds). *The Brain Cholinergic System in Health and Disease*. Oxon: Informa Healthcare. p 235–64.
- Greenberg SM, Tennis MK, Brown LB, et al. 2000. Donepezil therapy in clinical practice: a randomized crossover study. *Arch Neurol*, 57: 94–9.
- Hachinski V, Munoz DG. Cerebrovascular pathology in Alzheimer's disease: cause, effect or epiphenomenon *Ann NY Acad Sci* 1997; 826:1–6.
- Harthi S, Alavi S.E, Radwan M.A, El Khatib M.M, AlSarra I.A, Nasal delivery of donepezil HCl loaded hydrogels for the treatment of Alzheimer's disease *Scientific Reports* | (2019) 9: 9563.
- Hathaway DR, Konicki MV, Coolican SA (1985). Phosphorylation of myosin light chain kinase from vascular smooth muscle by cAMP and cGMP dependent protein kinases. *J. Moll. Cell Cardiol.*, 17, 841- 50.
- Herrera B, Eisenberg G, Holberndt O, Desco MM, Rabano A, Garcia-Barreno P, Del Cazino JF. Paradoxical effects of temperature on vascular tone. *Cryobiology* 2000; 41: 43-50.
- Herrera B, Desco MM, Eisenberg G, Garcia-Barreno P, Del Cazino JF. Role of elastic fibers in cooling-induced relaxation. *Cryobiology*. 2002;44: 101-9.
- Heydorn WE. 1997. Donepezil (E2020): a new acetylcholinesterase inhibitor. Review of its pharmacology, pharmacokinetics, and utility in the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Investg Drugs*, 6: 1527–35.
- Hong Yun Jeong, Han Hyun Jeong, Youn Young Chul, Park Kyung Won, Yang Dong Won, Kim SangYun, Kim Hwa Jung, Kim Ji Eun, Lee Jae-Hong and on behalf of the ODESA study (Optimal Dose Escalation Strategy to Successful Achievement of High Dose Donepezil 23 mg) Safety and tolerability of donepezil 23 mg with or without intermediate dose titration in patients with Alzheimer's disease taking donepezil 10 mg: a multicenter, randomized, open-label, parallel-design, three-arm, prospective trial *Alzheimer's Research & Therapy* (2019) 11:37.
- Hulme EC, Lu ZL, Saldanha JW, Bee MS. Structure and activation of muscarinic acetylcholine receptors. *Biochem Soc Trans* 2003;31(1):29-34.
- Jackson S, Ham RJ, Wilkinson D. 2004. The safety and tolerability of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol*, 58 (Suppl 1):1–8.
- Jann MW, Shirley KL, Small GW. clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clin pharmacokinet* 2002; 41: 719-39.

- Jantschak F, Popp AM, Hofmann RA, Villalón CM, Centurión D, Pertz HH. Postjunctional α_2C -adrenoceptors mediate vasoconstriction in rat tail artery: influence of precontraction and temperature on vasoreactivity. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol.* 2010 Dec;382(5-6):487-97.
- Johannsen P, Salmon E, Hampel H, Xu Y, Richardson S, Qvitzau S, Schindler R; AWARE Study Group. Assessing therapeutic efficacy in a progressive disease: a study of donepezil in Alzheimer's disease. *CNS Drugs.* 2006; 20(4):311-25.
- Kajioka S, Nakayama S, McMurray G, Abe K., Brading A F. Ca^{2+} channel properties in smooth muscle cells of the urinary bladder from pig and human. *Eur. J. of Pharmacol.* 2002; 443 (1-3):19-29.
- Karabacak H, Doğan N. İzole dana koroner arterinde muskarinik agonistlerle oluşan cevaplar ve bu cevapların kalsiyumla ilişkisi. *S.Ü. Tıp Fak Derg* 1996; 12: 397-404.
- Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Onuncu baskı. Ankara. Hacettepe Taş kitapçılık Ltd.Şti. 2002. 1075-92.
- Kayaalp SO. Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2012. 13. Baskı. 2. Cilt p. 980.
- Klabunde RE. Cardiovascular Physiology Concepts 2. Baskı. Published by Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
- Kosasa T, Kuriya Y, Matsui K, et al. 1999. Effect of donepezil hydrochloride (E2020) on basal concentration of extracellular acetylcholine in the hippocampus of rats. *Eur J Pharmacol*, 380:101-07.
- Kuhl DE, Minoshima S, Frey KA, Foster NL, Kilbourn MR, Koeppe RA. Limited donepezil inhibition of acetylcholinesterase measured with positron emission tomography in living Alzheimer cerebral cortex. *J Nucl Med.* 2000; 41: 1879-87.
- Kume T, Sugimoto M, Tanaka Y, et al. 2005. Up-regulation of nicotinic acetylcholine receptors by central-type acetylcholinesterase inhibitors in rat cortical neurons. *Eur J Pharmacol*, 527: 77-85.
- Lancaster JR. 2000, Nitric Oxide: Biology and Pathobiology Academic Press, San Diego, CA, 209-24 p.
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994 120:227-37.
- Maltz JS, Eberling JL, Jagust WJ, Budinger TF. Enhanced cutaneous vascular response in AD subjects under donepezil therapy. *Neurobiol Aging.* 2004 Apr;25(4):475-81.
- Masset MP, Lewis SJ, Bates JN, Kregel KC. Effect of heating on vascular reactivity in rat mesenteric arteries. *Journal of Applied Physiology.* 1998a; 85: 701-08.
- Merino P, Chemical Biology of Neurodegeneration: A Molecular Approach. 1. Baskı. Published 2019 by Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim, Almanya. p. 326.
- Mizuno S, Kameda A, Inagaki T, et al. 2004. Effects of donepezil on Alzheimer's disease: the relationship between cognitive function and rapid eye movement sleep. *Psychiatry Clin Neurosci*, 58: 660-65.
- Mizutani T, Layon AJ. Clinical applications of nitric oxide. *Chest.* 1996 Aug;110(2):506-24.
- Monge L, García-Villalón AL, Montoya JJ, García JL, Gómez B, Diéguez G. Response of rabbit ear artery to endothelin-1 during cooling. *Br J Pharmacol* 1991;104(3):609-12.

- Monge L, Garcia-Villalon AL, Montoya JJ, García JL, Fernández N, Gómez B, Diéguez G. Role of the endothelium in the cholinergic response of rabbit ear and femoral arteries during cooling. *Br J Pharmacol* 1993; 109: 61-7.
- Moraes WS, Poyares DR, Guilleminault C, et al. 2006. The effect of donepezil on sleep and REM sleep EEG in patients with Alzheimer disease: a double-blind placebo-controlled study. *Sleep*, 29: 199-205.
- Morris MC, Scherr PA, Hebert LE, Bennett DA, Wilson RS, GlynnRJ, et al. The cross-sectional association between blood pressure and Alzheimer's disease in a biracial community population of older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000;55(3):M130-6.
- Mustafa S, Thulesius O. Cooling is a potent vasodilator of deep vessels in the rat. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001b Nov;79(11):899-904.
- Mustafa S, Elgazzar AH, Ismael HN. Influence of hyperthermia on carotid blood flow using ^{99m}Tc-HMPAO. *Eur J Appl Physiol*. 2007 Sep;101(2):257-62.
- Nakahata K, Kinoshita H, Hama-Tomioka K, Ishida Y, Matsuda N, Hatakeyama N, Haba M, Kondo T, Hatano Y. Cholinesterase inhibitor donepezil dilates cerebral parenchymal arterioles via the activation of neuronal nitric oxide synthase. *Anesthesiology*. 2008 Jul;109(1):124-29.
- Netter FH. Atlas of Human Anatomy Inc. 2000. U.S.A. 2. Baskı. p. 204.
- Nikolsky EE, Vyskocil F, Bukharaeva EA, Samigullin D, Magazanik LG. Cholinergic regulation of the evoked quantal release at frog neuromuscular junction. *J. Physio*, 2004; 1(560):77-88.
- Nordberg A, Svensson AL. 1998. Cholinesterase inhibitors in the treatment of Alzheimer's disease: a comparison of tolerability and pharmacology. *Drug Saf*, 19: 465-80.
- Obermayr RP, Mayerhofer L, Knechtelsdorfer M, et al. 2005. The age-related down-regulation of the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis in the elderly male is reversed considerably by donepezil, a drug for Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*, 40: 157-63.
- Ohnishi A, Mihara M, Kamakura H, et al. 1993. Comparison of the pharmacokinetics of E2020, a new compound for Alzheimer's disease, in healthy young and elderly subjects. *J Clin Pharmacol*, 33: 1086-91.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric Oxide Release Accounts for the Biological Activity of Endothelium-Derived Relaxing Factor. *Nature* 1987; 327:524-26.
- Price JM, Chi X, Hellermann G, Sutton ET. Physiological levels of beta-amyloid induce cerebral vessel dysfunction and reduce endothelial nitric oxide production. *Neurol Res* 2001;23(5):506-12.
- Protas L, Shen JB, Pappano AJ. Carbachol increases contractions and intracellular Ca⁺⁺ transients in guinea pig ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 1998;284(1):66-74.
- Quinn, D.M. Acetylcholinesterase: Enzyme Structure, Reaction Dynamics and Virtual Transition States, *Chem. Rev.*, (1987), 87, 955-79.
- Rogers SL. 1998. Perspectives in the management of Alzheimer's disease: clinical profile of donepezil. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 9(Suppl 3):29-42.
- Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil Study Group. *Neurology* 1998; 50(1):136-45.
- Rogers SL, Doody RS, Pratt RD, et al. 2000. Long-term efficacy and safety of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease: final analysis of a US multicentre open-label study. *Eur Neuropsychopharmacol*, 10: 195-203.

- Ruela, A. L. M., de Figueiredo, E. C., de Araújo, M. B., Carvalho, F. C. & Pereira, G. R. (2016) Molecularly imprinted microparticles in lipidbased formulations for sustained release of donepezil. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 93, 114–22.
- RxMediaPharma (2019). İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı.
- Sabbagh M, Cummings J. Progressive cholinergic decline in Alzheimer's disease: consideration for treatment with donepezil 23mg in patients with moderate to severe symptomatology. *BMC Neurol.* 2011; 11: 21.
- Sabbagh M, Cummings J, Christensen D, Doody R, Farlow M, Liu L, Mackell J, Fain R. Evaluating the cognitive effects of donepezil 23 mg/d in moderate and severe Alzheimer's disease: analysis of effects of baseline features on treatment response. *BMC Geriatr.* 2013; 13: 56.
- Saito W, Noguchi K, Okazaki K, Matsuda T, Kato Y, Tanaka H, Shigenobu K. Temperature-sensitive effects of potassium channel openers on isolated guinea pig myocardium and aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31: 327-29.
- Shih CC, Chen PY, Chen MF, Lee TJF. Differential blockade by huperzine A and donepezil of sympathetic nicotinic acetylcholine receptor/mediated nitrenergic neurogenic dilations in porcine basilar arteries. *Eur J Pharmacol.* 2020 868 (5)1-9.
- Sugimoto H, Iimura Y, Yamanishi Y, et al. 1995. Sintesis and structureactivity relationships of acetylcholinesterase inhibitors: 1-benzyl-4- [(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)] methylpiperidine hydrochloride and related compounds. *J Med Chem*, 38: 4821–9.
- Sugimoto H, Ogura H, Arai Y, et al. 2002. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. *Jpn J Pharmacol*, 89: 7–20.
- Thulesius O, Yousif MH. Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase inhibition, a new mechanism for cold-induced vasoconstriction in cutaneous veins. *Acta Physiol Scand.* 1990;141(1):127-28.
- Tiritilli A. Guanylate cyclase and not ATP-dependent K⁺ channels seems temperature-dependent in smooth muscle relaxation of human umbilical arteries. *Eur J Pharmacol* 2000; 406; 79-84.
- Weisser J, Martin J, Bisping E, Maier LS, Beyersdorf F, Hasenfuss G, Pieske B. Influence of mild hypothermia on myocardial contractility and circulatory function. *Basic Res Cardiol* 2001; 96: 198-205.
- Whitehouse P, Price DL, Strubel RG, et al. 1982. Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science*, 215:1237–39.
- Wilkinson DG. 1999. The pharmacology of donepezil: a new treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother*, 1: 121–35.
- Wilkinson D, Murray J. Galantamine: a randomized, double-blind, dose comparison in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2001 Sep;16(9):852-57.
- Wong VW, Lerner E. Nitric oxide inhibition strategies. *Future Sci OA.* 2015;1(1). pii: FSO35.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı/ Soyadı: Büşra Toptaş

Doğum Yeri/ Tarihi: Konya/ 02.01.1992

Uyruğu: T.C.

İletişim

GSM: 0505 202 42 52

Mail: btoptas92@gmail.com

Eğitim

Vali Necati Çetinkaya İ.Ö.O. (2006)

Selçuklu Anadolu Lisesi (2006-2010)

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2010-2015)

Mesleki Deneyim

Özel Akademi Meram Hastanesi / Konya (Hastane Eczacılığı) (2016-2017)

Özel Selçuklu Hastanesi / Konya (Hastane Eczacılığı) (2018-2019)

Özel Dünyagöz Hastanesi / Konya (Hastane Eczacılığı) (2019-)