

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**SIÇANLARDA DİYABETİK NÖROPATİK AĞRIYA KARŞI
DONEPEZİL'İN ETKİSİ VE NİTRİK OKSİDİN ROLÜ**

Durmuş Ali ASLANLAR

Danışman

Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 211418002 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2022

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Durmuş Ali ASLANLAR**'ın “**Sıçanlarda Diyabetik Nöropatik Ağrıya Karşı Donepezil'in Etkisi ve Nitrik Oksidin Rolü**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA / 14.11.2022

Tez Danışmanı Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD

Jüri Üyesi Prof. Dr. Hasibe VURAL
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

Jüri Üyesi Prof. Dr. Neyhan ERGENE
Ankara Medipol Üniversitesi
Tıp Fakültesi Fizyoloji AD

Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN
Necmettin Erbakan Üniversitesi
Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD

Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Esra ŞUMLU
KTO Karatay Üniversitesi
Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 16/11/2022 tarih ve 24/19 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK
Enstitü Müdürü

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

14.11.2022

Durmuş Ali ASLANLAR



BENZERLİK RAPORU

Tezin Tam Adı: Sıçanlarda Diyabetik Nöropatik Ağrıya Karşı Donepezil'in Etkisi ve Nitrik Oksidin Rolü

Öğrencinin Adı Soyadı: Durmuş Ali ASLANLAR

Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı: 58

Sıçanlarda Diyabetik Nöropatik Ağrıya Karşı Donepezil'in Etkisi ve Nitrik Oksid'in Rolü

ORJİNALLİK RAPORU

%6	%6	%3	%4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%2
2	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	%1
3	earsiv.anadolu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
4	openaccess.amasya.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
5	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	%1
6	pharmacy.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	%1

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

TEŞEKKÜR

Farmakoloji eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, değerli zamanını, deneyimlerini ve görüşlerini paylaşan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK 'a,

Doktora eğitimim süresince bana çok şey öğreten, ilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ayşe Saide ŞAHİN'e, Doç. Dr. Salim Yalçın İNAN' a ve Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN 'a,

Deneyde kullandığımız Donepezil etken maddesini sağladıkları için İLKO İlaç San. ve Tic. A.Ş.'ye,

Deney boyunca desteklerini esirgemeyen N.E.Ü. KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkez Müdürü Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ'a ve Merkez personeli'ne,

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi, Doktora eğitimim süresince de beni destekleyen sevgili eşim Dr. Öğr. Üyesi Emine ASLANLAR'a ve canım kızlarım Zeynep Neva ve Elif İnci'ye sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Durmuş Ali ASLANLAR

İÇİNDEKİLER

Tez Kapağı ve İç Kapak.....	i
Tez Onay Sayfası	ii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu	iv
Önsöz ve Teşekkür.....	v
İçindekiler	vi
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi	x
Şekiller Listesi.....	xii
Resimler Listesi.....	xiii
Tablolar Listesi.....	xiv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	3
2.1.2. Tip 1 Diabetes Mellitus.....	5
2.1.3. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	5
2.1.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus.....	5
2.1.5. Diabetes Mellitus'un Epidemiyojisi.....	5
2.1.6. Tip 1 Diabetes Mellitus'un Patogonezi	6
2.1.7. Tip 2 Diabetes Mellitus'un Patogonezi.....	7
2.1.8. Diabetes Mellitus'un Vasküler Komplikasyonları.....	7
2.1.9. Diabetes Mellitus Tanı Testleri.....	8

2.2. Diyabetik Nöropati.....	8
2.2.1. Diyabetik Nöropati İçin Risk Faktörleri	10
2.2.2. Diyabetik Nöropatinin Epidemiyolojisi	11
2.2.3. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması.....	12
2.2.4. Ağrılı Diyabetik Nöropati	14
2.2.5. Diyabetik Nöropatinin Patofizyolojisi	14
2.2.5.1. Poliöl Yolunun Aktivasyonu.....	15
2.2.5.2. Oksidatif Stres.....	16
2.2.5.3. Heksozamin Yolunun Aktivasyonu	16
2.2.5.4. Enzimatik Olmayan Glikasyon ve İleri Glikasyon Son Ürünleri.....	16
2.2.5.5. Aşırı Protein Kinaz C Aktivitesi	17
2.2.5.6. Poli (ADP-riboz) Polimerazın Aktivasyonu	17
2.2.6. Diyabetik Periferik Nöropatik Ağrının Klinik Özellikleri.....	18
2.2.7. Diyabetik Nöropati Tanısı.....	19
2.2.8. Diyabetik Nöropatinin Tedavisi.....	20
2.2.8.1. Trisiklik Antidepresanlar	21
2.2.8.2. Serotonin Geri Alım İnhibitörleri	22
2.2.8.3. Pregabalin ve Gabapentin	23
2.2.8.4. Alfa Lipoik Asid	23
2.2.8.5. Topikal Analjezikler.....	23
2.2.8.6. Opioidler	20
2.3. Ağrı	25
2.3.1. Ağrının Tanımı.....	25
2.3.2. Ağrının Sınıflandırılması	25
2.3.2.1. Patofizyolojik Mekanizmaya Göre Ağrı Sınıflandırılması	25
2.3.2.2. Süresine Göre Ağrı Sınıflandırılması.....	26

2.3.2.3. Etiyolojiye Göre Ağrı Sınıflandırılması.....	26
2.3.2.4. Anatomik Konuma Göre Ağrı Sınıflandırılması.....	26
2.4. Donepezil	26
2.4.1. Donepezil'in Kimyasal Yapısı	27
2.4.2. Donepezil'in Farmakolojik Özellikleri	27
2.4.3. Farmakokinetik	29
2.4.4. Donepezil'in İlaç Etkileşimleri	29
2.4.5. Donepezil'in Yan Etkileri ve Güvenlik Profili	30
2.5. Nitrik Oksit	30
2.5.1. Nitrik Oksit Sentetaz	31
2.5.2. Nitrik Oksidin Fizyolojik Etkileri	31
2.5.3. Nitrik Oksit ve Nöropatik Ağrı	32
2.5.4. Nitrik Oksit Sentaz Substratları	32
2.5.5. Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörleri.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Deneysel Tasarım.....	34
3.1.1. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması	34
3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	35
3.1.3. Deneysel Metod	35
3.1.4. Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar	37
3.2. Mekanik Allodinin Değerlendirilmesi	37
3.2.1. Von Frey Filament Testi	37
3.3. Termal Hiperalejinin Değerlendirilmesi	39
3.3.1. Hot Plate Testi.....	39
3.3.2. Kuyruk Batırma Testi.....	39
3.4. Deneyin Sonlandırılması.....	40

3.5. İstatistiksel Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
7. KAYNAKLAR.....	63
8. ÖZGEÇMİŞ.....	73
9. EKLER.....	74



KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
AChE:	Asetilkolinesteraz
ADA:	Amerikan Diyabet Derneği
AGE:	İleri glikasyon son ürünleri
AGM:	Agmatin
ALA:	Alfa lipoik asid
AMPK:	AMP ile aktive olan protein kinaz
APC:	Antijen sunan hücre
CYP:	Sitokrom P450 sistemi
DAG:	Diaçil gliserol
Dk:	Dakika
DM:	Diabetes Mellitus
DN:	Diyabetik nöropati
DPN:	Diyabetik periferik nöropati
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
eNOS:	Endotelial nitrik oksit sentaz
FAD:	Flavin adenin dinükleotit
FDA:	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FMN:	Flavin mononükleotit
GDM:	Gestasyonel diabetes mellitus
GH:	Büyüme hormonu
HbA1c:	Hemoglobin A1c
IASP:	Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği
IDF:	Uluslararası Diyabet Federasyonu
IGT:	Bozulmuş glukoz toleransı
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
L-Arg:	L-arjinin
LDL:	Düşük yoğunluklu lipoprotein

L-homoArg:	L-homoarjinin
L-NA:	Nitro-L-Arjinin
L-NAA:	N-amino-L-arjinin
L-NAME:	Nitro-L-arjinin metil ester
L-NMMA:	Monometil-L-Arjinin
L-OHAr:	Nv-hidroksi-L-arjinin
MHC:	Majör doku uyumluluk kompleksi
MODY:	Gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabeti
nAChR:	Nikotinik asetilkolin reseptörü
NAD+:	Nikotinamid adenin dinükleotid
nNOS:	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
OGTT:	Oral glukoz tolerans testi
PARP:	poli (ADP-riboz) polimeraz
PDE-5:	Fosfodiesteraz-5
PI3K:	Fosfatidilinositol-3 kinaz
PKC:	Protein kinaz C
RAGE:	İleri glikasyon son ürünleri için reseptör
RBC:	Kırmızı kan hücreleri
Sn:	Saniye
SNI:	Spared nerve injury
SSRI:	Seçici serotonin geri alım inhibitörü
STZ:	Streptozotosin
TCA:	Trisiklik Antidepresan
Tip 1 DM:	Tip 1 Diabetes Mellitus
Tip 2 DM:	Tip 2 Diabetes Mellitus
TURDEP:	Türk Diyabet Epidemiyoloji Projesi
VEGF:	Endotelial büyüme faktörü
VGCC:	Voltaj kapılı kalsiyum kanalları

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Diyabetik Nöropatinin Patogenezi.....	15
Şekil 2.2. Diyabetik Nöropatinin Yönetimi.....	24
Şekil 2.3. Donepezil Hidroklorür'ün Molekül Yapısı	27
Şekil 2.4. Asetilkolin'in Metabolizması	28
Şekil 2.5. Nitrik Oksit Sentezi	31
Şekil 3.1. Deney Çalışma Takvimi	36
Şekil 4.1. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Ağırlık Değerlerinin Değişimi.....	42
Şekil 4.2. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Glukoz Değerlerinin Değişimi.....	43
Şekil 4.3. DM Grubunda 0. ve 4. Haftalardaki Hot Plate ve Kuyruk Batırma Test Değerlerinin Değişimi.....	44
Şekil 4.4. DM Grubunda 0. ve 4. Haftalardaki %50 Pençe Çekme Eşiğinin Değişimi	45
Şekil 4.5. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı	47
Şekil 4.6. Grup-1, 2, 3, 4 ve 5 Arasında 0., 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Hot Plate Değerlerinin Değişimi.....	47
Şekil 4.7. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı.....	49
Şekil 4.8. Grup-1,2, 3, 4 ve 5 Arasında 0. ,4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Kuyruk Batırma Değerlerinin Değişimi.....	50
Şekil 4.9. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı	52
Şekil 4.10. Grup-1, 2, 3, 4 ve 5 Arasında 0. , 4. ve 7. Haftalarda ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Değişimi	52

RESİMLER LİSTESİ

Resim 3.1. Oral Gavaj ve İntraperitoneal İlaç Uygulaması.....	36
Resim 3.2. Von Frey Testi Uygulaması	38
Resim 3.3. Hot Plate ve Kuyruk Batırma Testi Uygulaması.....	39



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Diabetes Mellitus'un Etyolojik Sınıflandırılması	4
Tablo 2.2. Dünya Sağlık Örgütü'nün Önerdiği DM Tanı Kriterleri	8
Tablo 2.3. Diyabetik Nöropatinin Risk Faktörleri	10
Tablo 2.4. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması.....	13
Tablo 2.5. Ağrılı Periferik Diyabetik Nöropatinin Tedavisi	22
Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Ağırlık Değerlerinin Dağılımı	41
Tablo 4.2. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Glukoz Değerlerinin Dağılımı	43
Tablo 4.3. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki Hot Plate Ölçümlerinin Dağılımı	44
Tablo 4.4. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki Kuyruk Batırma Ölçümlerinin Dağılımı	44
Tablo 4.5. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki %50 Pençe Çekme Eşiği Değerlerinin Dağılımı.....	45
Tablo 4.6. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı	45
Tablo 4.7. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı	46
Tablo 4.8. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı	46
Tablo 4.9. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı.....	48
Tablo 4.10. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı	48
Tablo 4.11. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı	49

Tablo 4.12. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiği Değerlerinin Dağılımı	50
Tablo 4.13. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı	50
Tablo 4.14. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı	51



ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Diyabetik Nöropatik Ağrıya Karşı Donepezil'in Etkisi ve Nitrik Oksidin Rolü

Durmuş Ali ASLANLAR

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi / Konya-2022

Diyabetik nöropati, diyabetik bireylerde karşılaşılan en yaygın mikrovasküler komplikasyon olup, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Diyabetik nöropati'nin semptomları olan allodini ve hiperaljezi, deneysel modellerde de sıklıkla ortaya çıkan ve ölçümleri yapılabilen davranışsal belirtilerdir. Tedavisinin etkin bir şekilde yapılamaması, diyabetik nöropatik ağrının halen en önemli klinik problemler arasında yer almasına neden olmaktadır. Tek başına ya da kombine halde kullanılan birçok farklı ilacın diyabetik nöropatik ağrıyı önlemede plaseboya göre daha etkili olduğu gösterilmesine rağmen hastaların çoğunda ağrı hissini tam olarak ortadan kaldıramadığı bilinmektedir.

Bu çalışmada, diyabetik nöropatik ağrı oluşturulmuş sıçanlarda donepezil'in analjezik etkisinin değerlendirilmesi ve nitrik oksit yolağının bu etkideki olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Streptozotosin ile diyabet oluşturulan deney hayvanlarında periferik nöropati gelişimi için dört hafta beklendi. Bu sürenin sonunda von Frey filamentleri, hot plate ve kuyruk batırma testleri uygulanarak nöropati oluşumu teyit edildi. Von Frey testi ile mekanik allodini, hot plate ve kuyruk batırma testleri ile de termal hiperaljezi değerlendirildi.

Diyabetik gruplar olan Grup-2 (DM), 3 (Donepezil), 4 (Donepezil-L-arjinin) ve 5 (Donepezil-L-NAME) arasında yedinci haftada ölçülen hot plate, kuyruk batırma ve von Frey testi değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkların Grup-2 ile Grup-3 ve Grup-5 arasında, Grup-3 ile Grup-5 arasında ve Grup-4 ile Grup-5 arasında olduğu görüldü.

Bu tez çalışmasında, kolinesteraz inhibitörü ilaçlar içerisinde yeni bir ikinci kuşak asetilkolinesteraz inhibitörü olan donepezil'in, streptozotosin ile indüklenen diyabetik nöropatide, termal uyaran ile oluşturulan hiperaljeziyi ve mekanik uyaran ile oluşturulan allodiniyi azalttığı ve başarılı biçimde tedavi ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca bu antihiperaljezik ve antiallodinik etkiye nitrik oksit yolağının katkısı olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Donepezil, nitrik oksit, von Frey, hot plate, kuyruk batırma

ABSTRACT

REPUBLIC OF TÜRKİYE
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The Effect of Donepezil on Diabetic Neuropathic Pain in Rats and Role of Nitric Oxide

Durmuş Ali ASLANLAR

Department of Medical Pharmacology

PhD Thesis / KONYA-2022

Diabetic neuropathy is the most common microvascular complication encountered in diabetic individuals and significantly affects the quality of life of patients. Allodynia and hyperalgesia, which are the symptoms of diabetic neuropathy, are behavioral symptoms that can be measured and frequently occur in experimental models. Ineffective treatment of diabetic neuropathic pain is still one of the most important clinical problems. Although many different drugs used alone or in combination have been shown to be more effective than placebo in preventing diabetic neuropathic pain, it is known that most of the patients cannot completely eliminate the feeling of pain.

In this study, it was aimed to evaluate the analgesic effect of donepezil in rats with diabetic neuropathic pain and to investigate the possible role of the nitric oxide pathway in this effect.

It was waited for four weeks for the development of peripheral neuropathy in experimental animals induced diabete streptozotocin. At the end of this period, von Frey filaments, hot plate and tail prick tests were performed to confirm the occurrence of neuropathy. Mechanical allodynia with the von Frey test, and thermal hyperalgesia with the hot plate and tail immersion tests were evaluated.

A statistically significant difference was found between the diabetic groups, Group-2 (DM), 3 (Donepezil), 4 (Donepezil-L-arginine) ve 5 (Donepezil-L-NAME), in terms of hot plate, tail immersion and von Frey test values measured at seven weeks ($p<0.05$). As a result of post-hoc pairwise comparisons, significant differences were observed between Group-2 and Group-3 and Group-5, between Group-3 and Group-5, and between Group-4 and Group-5.

In this thesis, it was revealed that donepezil, a new second generation acetylcholinesterase inhibitor drug among cholinesterase drugs, reduces and successfully treats thermal stimulus-induced hyperalgesia and mechanical stimulus-induced allodynia in streptozotocin-induced diabetic neuropathy. In addition, it can be said that the nitric oxide pathway contributes to this antihyperalgesic and antiallodynic effect.

Keywords: Donepezil, nitric oxide, von Frey, hot plate, tail immersion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diyabet, insülin sekresyonu veya insülin etkisinde ya da her ikisinde birden oluşan bozukluklar sonucu organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinden yeterince yararlanamadığı hiperglisemi ile seyreden kronik metabolik bir sendromdur (Heydari ve ark. 2010). Oluşan komplikasyonları sonucu morbidite ve mortalitesi yüksek olan diyabetin, görülme sıklığı giderek artmaktadır. Bazı tahminlere göre, dünya çapında 20 ila 79 yaşları arasındaki nüfusun %8,8' i yani 642 milyon insan, 2040 yılına kadar diyabet hastası olabilir (Zakin ve ark. 2019).

Diyabetik nöropati (DN), diyabet hastalığının en sık görülen mikrovasküler komplikasyonlarından biri olup; proksimal veya distal sinirleri ve duyu, motor ya da otonom sinirleri farklı şekillerde etkileyerek heterojen bir klinik tablo oluşturur (Barret ve ark. 2007). Diyabetik nöropatik ağrı, karıncalanma, yanma, keskin ağrı ve sızlama gibi hislerle karakterize bir ağrı türüdür. Bu semptomlar özellikle gece döneminde daha da aktifleşir ve uyku problemlerine yol açabilir (Bansal ve ark. 2006). Oldukça ızdırap verici olan bu ağrı türü, günlük aktivitelerin yapılmasına engel olarak, hastayı sosyal olarak pasifize edebilmektedir.

Nöropatik ağrının kaynaklandığı bölge ve semptomlarının belirgin derecede farklılık göstermesi, tedavisinin zor olmasının en önemli nedenleri arasındadır. Nitekim medikal tedavide nöropatik ağrı genellikle klasik ağrı kesicilere yanıt vermez. Diyabetik nöropatik ağrı'nın semptomatik tedavisinde gabapentin, pregabalin ve amitriptilin kullanılabilir. Opioidler, serotonin/norepinefrin geri alım inhibitörleri (SNRI'lar), lamotrijin ve tramadol ikinci ya da üçüncü sırada düşünülebilecek ajanlar arasındadır (Attal ve ark. 2006). Semptomları azaltmak için kullanılan bu ilaçlar hastalarda yaşam kalitesini artırır. Hastalığın mekanizmasında rol alan yolaklar üzerinden yeni ilaçlar geliştirilmesi için araştırmalar ve klinik denemeler halen devam etmektedir.

Donepezil, ikinci kuşak bir asetilkolinesteraz inhibitörü (AChEI) olup, nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) aracılı kaskad yoluyla etki gösterir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (Kawashiri ve ark. 2019), donepezil'in sıçanlarda oksaliplatin'e bağlı nöropatik ağrıyı azalttığı gösterilmiştir. Atef ve ark. (2019) da, donepezil'in, nöropatinin palyatif tedavisi için umut verici bir ajan olabileceğini vurgulamışlardır.

Nitrik oksit (NO), DPN'nin patogenezinde rol oynayan faktörlerden biridir ve NO agonisti L-arjinin'in Na^+K^+ -ATPaz aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (Sima 1996). Birçok çalışmada, L-arjinin/NO/cGMP yolağının, morfin'in (Tedesco ve ark 2002) ve bazı nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ)'lerin (Alcaraz ve Guillen 2002) antinosiseptif etkisinde rolü olduğu vurgulanmıştır. Yapılan araştırmalarda, oral ve intraperitoneal (i.p.) L-arjinin uygulamasının hotplate, tail-flick ve abdominal kontraksiyon testinde doza bağımlı olarak morfin'in antinosiseptif etkisini azalttığı ve bu etkinin nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü nitro-L-arjinin-metil ester (L-NAME)'in uygun dozuyla geri çevrilebileceği gösterilmiştir (Tedesco ve ark 2002). NOS inhibitörlerinin etkilerini indirekt olarak, glutamat salıverilmesini ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivasyonunu bloke ederek oluşturdukları düşünülmektedir (Levy ve ark. 2004).

Tedavisinin etkin bir şekilde yapılamaması, nöropatik ağrının, halen en önemli klinik problemler arasında yer almasına neden olmaktadır. Tek başına ya da kombine halde kullanılan birçok farklı ilacın diyabetik ağrıyı önlemede plaseboya göre daha etkili olduğu gösterilmesine rağmen hastaların çoğunda ağrı hissini tam olarak ortadan kaldıramadığı bilinmektedir. Klinik uygulamalarda genel olarak ağrı hissini %50 oranında azaltılmış olması başarı olarak kabul edilmekte, glisemik kontrol gibi tedavilerle kombine edilerek hastanın uyku bozukluğu, depresyon gibi durumları da kısmen iyileştirilebilmektedir (Singleton ve Smith 2012). Mevcut ilaçların efikasiteleri ve yan etki profilleri göz önünde bulundurulduğunda, DN'ye bağlı ağrının farmakoterapisi için daha etkin ve/veya daha güvenli yeni ilaçların keşfedilmesinin ya da yeni ilaçların PDN'ye bağlı ağrıdaki olası terapötik etkinliğinin araştırılmasının gerekliliği açıktır.

Başarı için nöropatik ağrıya özel tedavi gerekmektedir. Diyabetik nöropatik ağrının patofizyolojisinin henüz tam olarak aydınlatılamamış ve mekanizmanın çözülememiş olması, tedavi imkanlarını oldukça kısıtlamaktadır (Boyle ve ark. 2012). Bu ağrının oluşum mekanizmasından sorumlu birçok farklı biyokimyasal yolak olup, bunlardan biri de NO yolağıdır. Literatürde donepezil'in nöropatik ağrı üzerine etkileri henüz araştırılmaya başlanmış olup, NO yolağının bu etkideki rolü araştırılmamıştır.

Bu çalışmada, diyabetik nöropatik ağrı oluşturulmuş sıçanlarda donepezil'in analjezik etkisinin değerlendirilmesi ve NO yolağının bu etkideki olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonundaki, insülin etkisindeki veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır. DM'de görülen kronik hiperglisemi; özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları olmak üzere farklı organlarda uzun süreli hasar, işlev bozukluğu ve yetmezlik ile ilişkilidir (ADA 2013). Karakteristik klinik prezentasyon susuzluk, poliüri, bulanık görme ve kilo kaybıdır. DM ayrıca ketoasidoz veya hiperosmolar ketotik olmayan komaya yol açabilir. Genellikle semptomlar hafiftir veya yoktur ve kişi tamamen asemptomatik olsa da hafif hiperglisemi doku hasarı gelişerek yıllarca devam edebilir (Joshi 2020).

Diabetes mellitus'un gelişiminde çeşitli patojenik süreçler rol oynar. Bunlar, pankreasın beta hücrelerinin otoimmün yıkımından, bunun sonucunda insülin eksikliğinden, insülin etkisine dirençle sonuçlanan anormalliklere kadar uzanır. Diabetes mellitusta karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin temeli, insülinin hedef dokular üzerindeki etkisinin yetersiz oluşudur (Joshi 2020).

2.1.1. Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

Diyabet aşağıdaki kategorilere ayrılabilir:

Tip 1 DM: Yetişkinliğin gizli otoimmün diyabeti dahil olmak üzere genellikle mutlak insülin eksikliğine yol açan otoimmün β -hücresi yıkımına bağlı diyabet.

Tip 2 DM: Sıklıkla insülin direncinin arka planında β -hücrelerinden insülin sekresyonunun ilerleyici kaybı nedeniyle oluşan diyabet.

Gestasyonel diyabetes mellitus: Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde teşhis edilen ve gebelikten önce belirgin olmayan diyabet.

Diğer nedenlere bağlı olarak belirli özel türler (ADA 2022)(Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Diabetes Mellitus'un Etyolojik Sınıflandırılması.

1. Tip 1 Diabetes Mellitus
<ul style="list-style-type: none">• İmmün aracılı• İdiyopatik
2. Tip 2 Diabetes Mellitus
3. Gestasyonel Diabetes Mellitus
4. Diğer Spesifik Tipler
<ul style="list-style-type: none">• Mutasyonlar ile karakterize edilen β-hücre fonksiyonunun genetik kusurları• Hepatosit nükleer transkripsiyon faktörü (HNF) 4α (MODY 1)• Glukokinaz (MODY 2)• HNF-1α (MODY 3)• İnsülin promoter faktör-1 (IPF-1; MODY 4)• HNF-1β (MODY 5)• NöroD1 (MODY 6)• Mitokondriyal DNA• ATP'ye duyarlı potasyum kanalının alt birimleri• Proinsülin veya insülin dönüşümü• İnsülin etkisindeki genetik kusurlar• Tip A insülin direnci• Cücelik• Rabson-Mendenhall sendromu• Lipodistrofi sendromları• Ekzokrin pankreas hastalıkları: Pankreatit, pankreatektomi, neoplazi, kistik fibroz, hemokromatoz fibrokalkülöz pankreatopati• Endokrinopatiler: Akromegali, cushing sendromu, glukagonom, feokromositoma, hipertiroidizm, somatostatinoma, aldosteronoma• İlaç veya kimyasal kaynaklı: Pentamidin, nikotinik asit, glukokortikoidler, tiroid hormonu, diazoksit, β-adrenerjik agonistler, tiyazidler, fenitoin, α-interferon, proteaz inhibitörleri, klozapin, beta blokerler• Enfeksiyonlar: Konjenital kızamıkçık, sitomegalovirüs, coxackie virüs• İmmün aracılı diyabetin yaygın olmayan formları: Stiff-man sendromu, anti-insülin reseptör antikolları

2.1.2. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 DM, insüline bağımlı, juvenil veya çocuklukta başlayan diyabet olarak bilinir ve vücutta yetersiz insülin üretimi ile karakterize edilir. Tip 1 DM'li kişiler, kanlarındaki glukoz miktarını düzenlemek için günlük insülin uygulamasına ihtiyaç duyarlar. İnsüline erişimleri yoksa hayatta kalamazlar. Tip 1 diyabetin nedeni tam olarak bilinmemekle beraber şu anda önlenemez değildir. Semptomlar aşırı idrara çıkma, susama, sürekli açlık, kilo kaybı, görme değişiklikleri ve yorgunluğu içerir (WHO 2018).

2.1.3. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM, insüline bağımlı olmayan veya erişkin başlangıçlı diyabet olarak adlandırılır, vücudun insülin etkisine direnç göstermesinden kaynaklanır. Tip 2 DM, dünya çapında diyabetli kişilerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (WHO 1999).

Semptomlar Tip 1 DM'ye benzer olabilir, ancak genellikle daha az belirgindir veya yoktur. Komplikasyonlar ortaya çıkana kadar hastalık birkaç yıl teşhis edilemeyebilir. Tip 2 DM uzun yıllar sadece yetişkinlerde görülürken, günümüzde çocuklarda da görülmektedir (WHO 2018).

2.1.4. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gebelik sırasında glukoz intoleransı gelişebilir. İnsülin direnci, geç gebeliğin metabolik değişiklikleri ile ilişkilidir ve artan insülin gereksinimleri bozulmuş glukoz toleransı (IGT)'na yol açabilir. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM), Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'ndeki gebeliklerin yaklaşık %4'ünde görülür; çoğu kadın, doğumdan sonra normal glukoz toleransına geri döner, ancak yaşamın ilerleyen dönemlerinde DM gelişimi açısından önemli bir risk (%30-60) vardır.

2.1.5. Diabetes Mellitus'un Epidemiyolojisi

Diabetes mellitus, özellikle Tip 2, insan yaşamı ve sağlık harcamaları üzerinde önemli etkisi olan ciddi bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda obezitenin artması ve sedanter yaşam tarzının benimsenmesi ile hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde diyabet insidansı ve prevalansı tüm dünyada hızla artmaktadır (Satman ve ark. 2022). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, her türden DM, dünya genelinde son yıllarda katlanarak artmaktadır. DM prevalansı 1980

yılında 108 milyon (%4,7) iken 2017 yılında 425 milyona (%8,5) yükselmiştir ve 2045 yılına kadar 629 milyon olacağı tahmin edilmektedir (IDF 2017).

Türkiye’de diyabet prevalansına ilişkin en kapsamlı çalışma Türk Diyabet Epidemiyoloji Projesi (TURDEP)’dir. 1997–1998 yıllarında ülke çapında yapılan bu çalışmada, diyabet prevalansı %7,2 olarak bulunmuştur. 12 yıl sonra Diyabet Epidemiyoloji Çalışması TURDEP II, diyabet prevalansının (%13,7) %90 oranında arttığını ortaya koymuştur (Satman ve ark. 2002, 2013).

Son veriler, DM yükünün son on yılda önemli ölçüde arttığını ve büyüyen bir salgın olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. Yetişkin popülasyonun %8,8’ine DM teşhisi konulmaktadır. Bu eğilimler tersine çevrilmezse, 2040 yılına kadar dünya nüfusunun %9,9’unu temsil eden 18-99 yaşları arasındaki yaklaşık 693 milyon kişinin DM’ye sahip olacağı tahmin edilmektedir (Ogurtsova ve ark. 2017).

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)’nin son tahminlerine göre, 2021 yılı itibariyle 537 milyon erişkin diyabetli olduğu ve bu rakamın 2030’a kadar 643 milyona ve 2045 yılında ise 783 milyona çıkması beklenmektedir (IDF 2021).

2.1.6. Tip 1 Diabetes Mellitus’un Patagonezi

İnsüline bağımlı diyabet olarak da bilinen Tip 1 DM, pankreas β hücrelerinin otoimmün yanıt yoluyla yıkımından kaynaklanan insülin eksikliğinin bir sonucudur. Tip 1 DM’li bir hastada pankreasın histolojik analizi, Langerhans adacıklarında T ve B lenfositleri, makrofajlar, dendritik hücreler, doğal öldürücü hücreler ve ayrıca adacık reaktif otoantikörler ile adacık reaktif T hücreleri dahil olmak üzere çeşitli bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunu göstermektedir (Tan ve ark. 2019).

Tip 1 DM gelişme olasılığı, otoantijenlerin salınmasına yol açan β -hücre turnoveri veya hasarı ile ilişkilidir. β -hücre oto-antijenleri, antijen sunan hücre (APC) tarafından T-helper hücrelere sunulur. APC, majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) ile birlikte pankreas lenf düğümüne göç eder. APC varlığında otoantikörler ve otoreaktif T-hücreleri aktive olur ve β -hücrelerinin otoantijenlerine karşı yönlendirilir. Bu aktive edilmiş T-hücreleri, aynı kökenli β -hücre antijenleriyle yeniden karşılaşır ve tekrar aktif hale gelerek β -hücrelerini öldürür (Roep ve Peakman 2012).

2.1.7. Tip 2 Diabetes Mellitus'un Patogenezi

Tip 2 DM, bozulmuş insülin sekresyonu, insülin direnci, aşırı hepatik glukoz üretimi ve anormal yağ metabolizması ile karakterizedir. Obezite, özellikle visseral veya merkezi (kalça/bel oranı ile kanıtlandığı gibi), Tip 2 DM'de çok yaygındır. Hastalığın erken evrelerinde, pankreas beta hücreleri insülin çıkışını artırarak telafi ettiği için, insülin direncine rağmen glukoz toleransı normale yakın kalır. İnsülin direnci ve telafi edici hiperinsülinemi ilerledikçe, bazı kişilerde pankreas adacıkları hiperinsülinemik durumu sürdürmez. Daha sonra tokluk glukozundaki yükselmelerle karakterize olan IGT gelişir. İnsülin sekresyonunda daha fazla düşüş ile hepatik glukoz üretiminde artış, açlık hiperglisemisi ile belirgin diyabete yol açar. Sonuçta, beta hücre yetmezliği ortaya çıkabilir.

Tip 2 DM, güçlü bir genetik bileşene sahip olup, tek yumurta ikizlerinde Tip 2 DM uyumu %70 ile %90 arasındadır. Ebeveyni Tip 2 DM olan bireylerde diyabet riski artar; her iki ebeveyn de Tip 2 DM'ye sahipse risk %40'a yaklaşır. Hastalık poligenik ve çok faktörlüdür, çünkü genetik yatkınlığa ek olarak çevresel faktörler (obezite, beslenme ve fiziksel aktivite gibi) fenotipi modüle eder (Loscalzo ve ark. 2022).

2.1.8. Diabetes Mellitus'un Vasküler Komplikasyonları

Vasküler komplikasyonlar, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar olarak tanımlanmış olup, mikrovasküler komplikasyonlar diyabetik retinopati, diyabetik nefropati, diyabetik nöropati olarak tanımlanırken makrovasküler komplikasyonlar ise kardiyovasküler hastalık, serebrovasküler hastalık, periferik damar hastalığı olarak belirtilmiştir (Joshi 2020).

Zamanla DM kalbe, kan damarlarına, gözlere, böbreklere ve sinirlere zarar verebilir ve kalp hastalığı ile inme riskini artırabilir. Bu tür bir hasar, kan akışının azalmasına neden olabilir, bu da ayaklarda sinir hasarı ile gelişen nöropati ile birleştiğinde ayak ülseri, enfeksiyon ve nihai olarak uzuv amputasyon ihtiyacını artırır. Diyabetik retinopati, körlüğün önemli bir nedenidir ve retinadaki küçük kan damarlarında uzun süreli birikmiş hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkar. DM ayrıca böbrek yetmezliğinin önde gelen nedenleri arasındadır (WHO 2018).

2.1.9. Diabetes Mellitus Tanı Testleri

Diabetes mellitus tanısı, plazma glukoz kriterlerine göre, ya açlık plazma glukozu değeri veya 75 g oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2 saatlik plazma glukozu değeri ya da hemogloblin elektroforezi ile ölçülen diyabetik hasta kanlarında daha yüksek oranda bulunan hemogloblin A1 fraksiyonu, A1C kriterlerine göre konur (WHO 2018) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Dünya Sağlık Örgütü'nün Önerdiği DM Tanı Kriterleri.

Diabetes Mellitus
Açlık plazma glukozu $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL) ve/veya Glukoz yüklemesinden 2 saat sonra Plazma glukozu $\geq 11,1$ mmol/L (200 mg/dL)
Bozulmuş Glukoz Toleransı
Açlık plazma glukozu $< 7,0$ mmol/L (126 mg/dL) ve Glukoz yüklemesinden 2 saat sonra Plazma glukozu $\geq 7,8$ mmol/L (126 mg/dL) $< 11,1$ mmol/L (140 ve 200 mg/dL)
Bozulmuş Açlık Glisemisi
Açlık plazma glukozu 6,1- 6,9 mmol/L (110-125 mg/dL) ve (ölçülürse) Glukoz yüklemesinden 2 saat sonra Plazma glukozu $< 7,8$ mmol/L (140 mg/dL)

2.2. Diyabetik Nöropati

Diyabetik nöropati, diğer olası nöronal hasar nedenleri dışlandıktan sonra, DM'li hastalarda nöropatiyi düşündürülen belirli veya spesifik semptomların varlığı olarak tanımlanabilir (Bansal ve ark. 2006). DN tek bir antite olmayıp, geniş bir klinik belirti yelpazesini ve nörolojik tutulum düzeylerini kapsayan “diyabetik nöropatiler” terimi daha uygun bir terim gibi görünmektedir (Oh 2020).

Diyabetik nöropati, DM’li bireylerde karşılaşılan en yaygın mikrovasküler komplikasyon olup, hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Diyabetik nöropatik ağrı sürekli olarak hissedilebilmekte hatta bazen yüzeysel allodoni (ağrı oluşturmayaacak bir uyarana ağrı duyulması) de eşlik edebilmektedir (Quattrini ve Tesfaye 2003). DPN, periferik sinir liflerinde yaygın hasar ile karakterizedir (Khdour 2019). Hiperaleji (ağrılı bir uyarana için ağrı eşliğinin azalması) de, nöropatik ağrının en önemli klinik belirtilerindendir. Allodini ve hiperaleji, deneysel modellerde de sıklıkla ortaya çıkan ve ölçümleri yapılabilen davranışsal belirtilerdir (Mete ve Aksu 2015).

Diyabetik periferik nöropati gelişmesinde birçok metabolik yolak rol oynar. Bu yollar üzerinden hücrenin redoks kapasitesi değişir ve reaktif oksijen türlerinin üretimi artar. Artmış oksidatif stres nörolojik fonksiyonları bozar, periferik sinir sisteminde nöronların, Schwann ve glia hücrelerinin apoptozisine neden olur. Bu yollar üzerinden etki gösteren birçok terapötik ajan diyabetik periferik nöropati tedavisinde denenmekte ve bu hastalığın etkin tedavi yönteminin tam olarak bulunmaması nedeniyle araştırmalar halen devam etmektedir.

Yirmi yıllık hastalık progresyonundan sonra, alt ekstremitedeki karakteristik kronik ağrı göz önüne alındığında, DM hastalarının %50’sinden fazlası bu komplikasyondan etkilenmektedir (Bondar ve ark. 2021). Tip 1 DM hastalarının 1/3’ünde ve Tip 2 DM hastalarının yaklaşık %60’ında tanı konamamakta ve polinöropati sıklıkla gözden kaçmaktadır (Pafili ve ark. 2018).

Günümüzde DN halen önemli bir morbidite nedeni olmaya devam etmektedir. Ayrıca diyabetik ayak sendromu ve özellikle yaşlılarda denge bozukluklarının nedeni olduğu düşmeler için bilinen bir risk faktörüdür (Román-Pintos ve ark. 2016). Diyabetik ayak sendromu ayrıca yüksek enfeksiyon ve amputasyon riski ile ilişkilidir. DN, diğer semptomlara ek olarak kötü uyku ve depresyon şeklinde kendini gösteren önemli morbidite ve sakatlığa da neden olmaktadır (Zakin ve ark. 2019).

Diyabetik nöropati, ayrıca iştahı etkileyerek “diyabetik nöropatik kaşeksi” olarak adlandırılan önemli kilo kaybına neden olabilir (O’Connor 2009).

2.2.1. Diyabetik Nöropati İçin Risk Faktörleri

Diyabet süresi ve hemoglobin A1c (HbA1c, ortalama günlük glukoz seviyelerinin yerine geçen bir glikozillenmiş hemoglobin ölçümü) seviyeleri diyabetik nöropatinin ana belirleyicileridir. Bu iki belirleyici, özellikle Tip 2 DM’de görülen hipertansiyon ve insülin direnci gibi DN ile korele diğer metabolik faktörlerle yaygın olarak ilişkilidir (Teskaye ve ark. 2005). Diyabetik nöropatinin risk faktörleri Tablo 2.3’de gösterilmiştir (TÜRKDİAB 2019).

ABD, Danimarka, Çin ve Hollanda dahil olmak üzere birçok ülkede yapılan popülasyon temelli çalışmalarda obeziteli hastalarda nöropati yaygın bulunmuştur (Feldman ve ark. 2019). HbA1c seviyelerinden bağımsız olarak, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, abdominal obezite ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyeleri gibi metabolik sendrom bileşenlerinin sayısı, Tip 2 DM’li hastalarda ve seçilmiş Tip 1 DM kohortlarında DN ile ilişkili bulunmuştur (Callaghan ve ark. 2016).

Diyabetik nöropati gelişimi için diğer bağımsız risk faktörleri olarak insülin direnci, alkol, sigara tüketimi, trombosit aktivasyonu ve agregabilite artışı, düşük D vitamini, subklinik inflamasyon, farklı kanserlerde paraneoplastik sendrom, kemoterapi tedavisi, genetik faktörler ve artan oksidatif stres sayılabilir (Bondar ve ark. 2021).

Tablo 2.3. Diyabetik Nöropatinin Risk Faktörleri.

Diyabet süresi
Glisemik kontrol
Arteriyel hipertansiyon
Periferik arter hastalığı
Diyabetik retinopati
Diyabetik nefropati
Visseral obezite
Hiperlipidemi
Alkol ve / veya nikotin kullanımı
Yetersiz fiziksel aktivite
Demografik faktörler (yaş, boy, kilo, vb)

2.2.2. Diyabetik Nöropatinin Epidemiyolojisi

Diyabetik nöropatinin epidemiyolojik çalışmaları, farklı hasta popülasyonları, kullanılan nöropati tanımları ve değerlendirme yöntemleri nedeniyle heterojen sonuçlar sağlamıştır (Stino ve Smith 2017).

On altı ülkede 3000'den fazla hastayı değerlendiren EURODIAB IDDM komplikasyon çalışmasında, hastaların %28'inde nöropati tespit edilmiş ve 7 yıl sonra bu prevalansın %23,5 arttığı bulunmuştur (Tesfaye ve ark. 2005). Ağırlıklı olarak Tip 2 DM'li hastaların bulunduğu ve 6500 hastanın katıldığı anket ve muayeneye dayalı çok merkezli bir çalışmada, DPN oranı %28,5 olarak tespit edilmiştir. Prevalansın ileri yaş ve diyabet süresiyle ilişkili olarak arttığı saptanmıştır (Young ve ark. 1993). 4400 hastanın katıldığı 25 yıl boyunca DPN prevalansı değerlendirilen başka bir çalışmada, 25 yılda hastaların %50'sinde DPN oluşmuş ve tanı, diyabetin süresi ile pozitif korelasyon göstermiştir (Pirart 1977). Diyabet kontrolü ve komplikasyonları çalışmasında, yaklaşık 26 yıllık diyabetten sonra yoğun ve geleneksel tedavi alan hastaların sırasıyla %25'inde ve %35'inde DPN'nin mevcut olduğu saptanmıştır (Albers ve ark. 2010).

Son dönemlerde, diyabet süresi daha kısa olan gençlerde DPN prevalansı yeniden değerlendirilmiştir. Gençlik çalışmasında diyabet araştırması (SEARCH, The Search for Diabetes in Youth Study), diyabet süresi 5 yıldan fazla olan 20 yaş üstü gençlerden oluşan bir kohort olup, Michigan Nöropati Tarama Ölçeği kullanılarak analiz edilmiştir. Tip 1 DM'li 1374 ve tip 2 DM'li 258 hastadan elde edilen veriler incelenmiş ve DPN prevalans oranlarını sırasıyla %7 ve %22 olarak ortaya koymuştur (Iqbal ve ark. 2018).

Menke ve ark. (2015), 20 milyondan fazla Amerikalının diyabet öncesi, Tip 1 DM veya Tip 2 DM'ye ikincil nöropatiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte, diyabet öncesi ve diyabet, dünya çapında sırasıyla 316 milyon ve 387 milyon insanı etkilemektedir ve kesin rakamlar bilinmemekle birlikte, dünya çapında etkilenenlerin en az 200 milyonunun ilişkili bir nöropatisi olabileceği belirtilmiştir (Feldman ve ark. 2017).

Türkiye'de üniversite hastanesi polikliniklerine başvuran 1133 Tip 1 DM ve Tip 2 DM hastasının dahil olduğu çalışmada, hastaların %40,4'ünü DPN'nin etkilediği

ve bu popülasyonda nöropatik ağrı prevalansının %14,0 olduğu gösterilmiştir (Erbaş ve ark. 2011).

Çoğu tahmin, diyabetli yetişkinlerin yaklaşık %50'sinin yaşamları boyunca diyabetik periferik nöropatiden etkileneceğini düşündürmektedir (Boulton 2014).

2.2.3. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması

Diyabetik nöropati için evrensel olarak kabul edilmiş bir sınıflandırma yoktur. Son yıllarda çeşitli sınıflandırmalar önerilmiştir. Önerilen sınıflandırmalardan bazıları etiyolojiye, patolojik veya topografik özelliklere dayanmaktadır (Yavuz 2022).

Thomas (1997), ilk olarak diyabetik hastalarda nöropati sınıflandırmasını önermiş ve çoğu araştırmacı bunu genel olarak kabul etmiştir. Thomas diyabetik nöropatileri dört ana gruba ayırmıştır:

1. Hiperglisemik nöropati
2. Simetrik polinöropati (Duyusal/otonom polinöropati, Akut ağrılı diyabetik nöropati)
3. Fokal ve multifokal nöropati (Kraniyal nöropati, Torako-abdominal nöropati, Fokal ekstremitte nöropatileri, Diyabetik amyotrofi),
4. Karışık formlar

Yakın zamanda ise Amerikan Diyabet Birliği (ADA, American Diabetes Association) diyabetik nöropatileri üç ana kategoride sınıflandırmıştır (Pop-Busui ve ark. 2017) (Tablo 2.4).

1. Diffus nöropati (distal simetrik polinöropati ve otonomik)
2. Mononöropati (mononörit multipleks, atipik formlar)
3. Radikülopati veya poliradikülopati

Klinik olarak simetrik ve asimetrik nöropatileri ayırt etmek önemlidir çünkü farklı tanı ve tedavi yaklaşımları gerektirirler. Tip 1 ve Tip 2 DM'de en sık görülen nöropati tipi distal simetrik polinöropati olmasına rağmen, DN'nin farklı formları genellikle aynı hastada bir arada bulunur. Ayrıca diyabetin tüm diyabetik hastalarda mutlaka nöropatiye neden olmayabileceğini akılda tutmak önemlidir. DN tanısı konmadan önce diyabet dışındaki diğer etiyojik faktörlerin dışlanması gerekir (Yavuz 2022).

Tablo 2.4. Diyabetik Nöropatinin Sınıflandırılması (Pop-Busui ve ark. 2017).

A. Diffus nöropati

Distal simetrik polinöropati (DSPN)
İnce lif nöropatisi
Kalın lif nöropatisi
Miks - ince ve kalın lif nöropatisi (en yaygın)
Otonom
 Kardiyovasküler
Azaltılmış HRV
Dinlenme taşikardisi
Ortostatik hipotansiyon
Ani ölüm (malign aritmi)
 Gastrointestinal
Diyabetik gastroparezi (gastropati)
Diyabetik enteropati (ishal)
Kolonik hipomotilite (kabızlık)
 Ürogenital
Diyabetik sistopati (nörojenik mesane)
Eretil disfonksiyon
Kadın cinsel işlev bozukluğu
 Sudomotor disfonksiyon
Distal hipohidroz/anhidroz,
Terleme
 Hipoglisemi algılayamama
 Anormal pupil fonksiyonları

B. Mononöropati (mononöritis multipleks) (atipik formlar)

İzole kraniyal veya periferik sinir (örn. III. Kraniyal sinir, ulnar, median, femoral, peroneal)
Mononörit multipleks (eğer birleşen polinöropatiye benzeyebilirse)

C. Radikülopati veya poliradikülopati

Radikülopleksus nöropatisi (lumbosakral poliradikülopati, proksimal motor amiyotrofi)

Torasik radikülopati

Diyabette sık görülen diyabetik olmayan nöropatiler

Basınç felçleri
Kronik inflamatuvar demiyelinizan polinöropati
Radikülopleksus nöropatisi
Akut ağrılı küçük lifli nöropatiler (tedaviye bağlı)

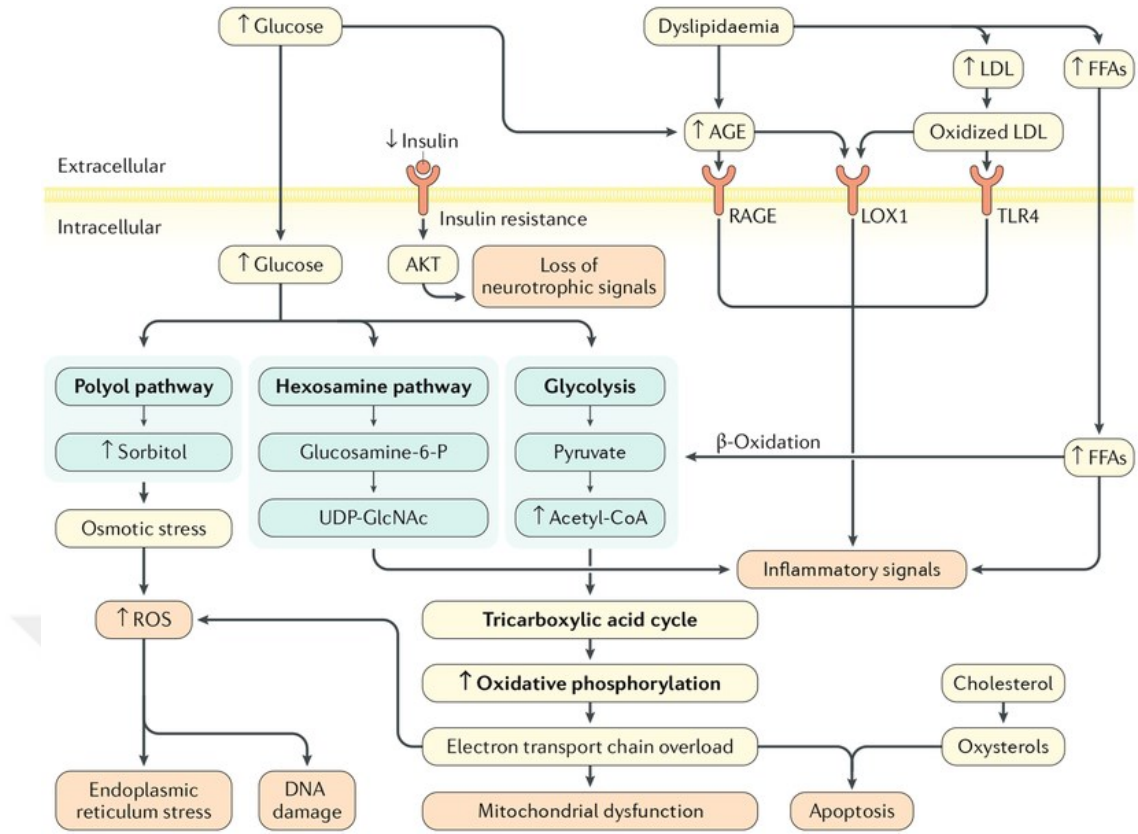
2.2.4. Ağrılı Diyabetik Nöropati

Diyabetik hastaların sadece %20-50'sinde, DPN hastalarının ise yaklaşık %60'ında nöropatik ağrı gelişir. Bazı hastalar nöropatik ağrı yaşarken bazılarının yaşamamasının nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, DPN'de nöropatik ağrı gelişimi için risk faktörleri (demografik, metabolik, duyuşsal, genetik) hakkında artan kanıtlar vardır (Shillo ve ark. 2019). DPN'deki nöropatik ağrı, kadın cinsiyeti, artan yaş ve etnik köken ile ilişkili görünmektedir (Hebert ve ark. 2017; Truini ve ark. 2018). Obezite, yüksek HbA1c, fazla alkol alımı, DM tipi ve süresi gibi metabolik sorunlar nöropati gelişme riskini artırabilir (Rosenberger ve ark. 2020).

2.2.5. Diyabetik Nöropatinin Patofizyolojisi

Diyabetik nöropatinin patofizyolojisi henüz iyi anlaşılmamış olup, etiolojisi büyük ihtimalle çok faktörlüdür. Normal metabolik homeostaz, otoimmünite ve mikrovasküler yetersizlik düzensizliklerini içeren birkaç olası mekanizma suçlanmıştır (Vinik ve ark. 2013). Metabolik mekanizmalar arasında oksidatif ve nitrozatif stres, glikasyon son ürünlerinin birikmesi, kalsiyum homeostazında düzensizlik, poliol yolu aktivitesinde artış ve mitokondriyal disfonksiyon yer alır. Bu mekanizmaların hem periferik duyu nöron hücrelerini hem de destekleyici glial hücreleri etkilediğine inanılmaktadır (Verkhatsky ve Fernyhough 2014). Sinir biyopsileri, hem miyelinsiz liflerin nöropati seyrinin başlarında dejenerasyonunu hem de daha ileri hastalıkta görülen miyelinli liflerde hasarı ortaya çıkarmıştır. Bu periferik lezyonlar sinyallerini merkezi sinir sistemine ilettikleri için zamanla nosiseptif nöronların merkezi duyarlılaşması meydana gelebilir (Zakin ve ark. 2019).

Nöropati gelişimi için olası mekanizmalar arasında oksidatif stres, enzimatik olmayan glikasyon, poliol yolu, heksozamin yolu, protein kinaz C yolu, poli (ADP-riboz) polimeraz ve nörotrofik faktörlerin azaltılması sayılabilir (Şekil 2.1). Bu patojenik faktörlerin sinerjik hareketi, DPN'nin nedeni olabilir (Charnogursky ve ark. 2014).



Şekil. 2.1. Diyabetik Nöropatinin Patogenezi (Feldman ve ark. 2019).

2.2.5.1. Poliöl Yolunun Aktivasyonu

Diyabetik nöropatiye en sık metabolik problemler neden olur. Poliöl yolunun artmış stimülasyonu, azalmış insülin üretiminden kaynaklanan DM ile ilişkili hiperglisemik durumdan kaynaklanır. Aldoz redüktazın glukoz afinitesi hiperglisemik durumda artar, bu da hücre zarından ve sinir hücresinden geçemeyen sorbitolün artmasına neden olur. Oluşan sorbitol hücre dışına çıkamaz ve hücre içine su çekerek hücre içinde ozmotik strese yol açar ve hücre içi basıncın artmasına neden olur. Sonuçta Schwann hücre hasarı ve sinir lifi dejenerasyonu oluşur (Oates 2002).

Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz kompleksinin indüksiyonu, glutatyon sentezini sınırlar, NO seviyelerini düşürür ve reaktif oksijen metabolit seviyelerini artırır ve sonuçta oksidatif strese yol açar (Matsunami ve ark 2011).

Nükleer enzim poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), serbest radikaller, oksidanlar ve bazı açıklanamayan metabolik faktörler tarafından aktive edilir ve bu DN'nin oluşmasında önemli bir adımdır (Drel ve ark. 2010).

Mikrovasküler hasar ve hipoksiye ayrıca NO eksikliği ve serbest oksijen radikallerinin artan aktivitesi neden olur. Aşırı sorbitol sinir dokusunda birikerek ozmotik strese ve doku hasarına yol açar. İmpuls iletiminde hayati önem taşıyan Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi, miyo-inositol seviyeleri düşük olduğunda da azalır. DM'de, sodyuma bağlı miyo-inositol absorpsiyonunun inhibisyonu ve poliol yolundaki önemli değişiklikler nedeniyle sinirlerde miyo-inositol eksikliği görülür. Sinir için gerekli olan renal Na^+/K^+ -ATPaz enziminin yetersizliği düşük miyo-inositol düzeylerinden kaynaklanır ve sonuç olarak uyarın iletimi yavaşlar (Pathak ve ark. 2022).

2.2.5.2. Oksidatif Stres

Yüksek glukoz seviyeleri, glukoz oto-oksidasyonu ve ileri glikozilasyon son ürünlerinin üretimi ve poliol yolunun aktivasyonu, oksidatif stresi artırabilir. Oksidatif stres ayrıca sitokinlerin, vasküler adezyon moleküllerinin, endotelin-1'in ve prokoagülan doku faktörünün aktivasyonuna da yol açabilir. Oksidatif stres ayrıca endotel fonksiyonunun bozulmasına, endotelial NO üretiminin ve kapiller vazodilatasyonun azalmasına yol açar. Bu mekanizma sonuçta sinir hipoksisine katkıda bulunur (Charnogursky ve ark. 2014).

2.2.5.3. Heksozamin Yolunun Aktivasyonu

Fazla glukozun glikolitik ara ürünleri heksozamin yoluna yönlendirilir. Fruktoz-6-fosfat, glutamin: fruktoz-6-fosfat-amidotransferaz (GFAT) tarafından N-asetilglukozamin-6-fosfata dönüştürülür. N-Asetilglukozamin-6-fosfat daha sonra N-asetilglukozamin-1,6-fosfata ve üridin difosfat-N-asetil glukozamin (UDP-GlcNAc) e dönüştürülür. UDP-GlcNAc, normal hücre fonksiyonu için gerekli olan gen ekspresyonunu ve protein üretimini değiştirir. Bu yolda üretilen proteinlerin çoğu, nöropatiyi destekleyen, koagülasyonu önleyen ve vasküler komplikasyonları artıran plazminojen-aktivatör inhibitörünü içeren inflamatuvar ara ürünlerdir (Brownlee 2001).

2.2.5.4. Enzimatik Olmayan Glikasyon ve İleri Glikasyon Son Ürünleri

Gelişmiş glikasyon son ürünleri, Maillard Reaksiyonu adı verilen bir işlemle glukoz ve proteinlerin amino gruplarının enzimatik olmayan reaksiyonlarından oluşturulur. Diyabetin neden olduğu hiperglisemi, gelişmiş glikasyon son ürünlerinin

üretimine artmasına yol açar. Bu bileşikler proteinlere, lipidlere, zarlara ve hücre dışı matrise eklenerek fonksiyon, yapı ve hücre-hücre etkileşimlerini değiştirir ve sinirde de miyelin sentezini etkileyebilir. Gelişmiş glikasyon son ürünleri ayrıca vasküler yapı ve işlevi değiştirerek lokalize iskemiye neden olan kan akışını değiştirerek periferik sinirleri dolaylı olarak etkileyebilir. İleri glikasyon son ürünlerinin patolojik etkilerini göstermelerinin bir başka yolu da hücrel reseptörlere bağlanma yoluyla (Forbes ve Cooper 2013; Zochodne 2014).

İleri glikasyon son ürünleri (AGE, advanced glycation end product) için en çok tanınan reseptör, yaygın olarak “ileri glikasyon son ürünleri için reseptör” (RAGE, receptor for advanced glycation end products) olarak adlandırılır. Hayvan çalışmaları, DPN de dahil olmak üzere diyabet komplikasyonlarının patolojisinde AGE ve RAGE ile ilgili birincil veri kaynağı olmuştur. Piridoksamin, aminoguanidin ve benfotiamin gibi gelişmiş glikasyon son ürünlerinin seviyelerini düşüren veya gelişmiş glikasyon son ürünlerini detoksifiye etmek için glioksalaz sisteminin aktivitesini artıran tedavilerin DPN’yi iyileştirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte gelişmiş glikasyon son ürünlerinin DPN üzerindeki etkilerini test eden az sayıda klinik çalışma yapılmıştır (Yorek 2022).

2.2.5.5. Aşırı Protein Kinaz C Aktivitesi

Yüksek glukoz seviyeleri, protein kinaz C (PKC)’yi aktive eden diaçil gliserol (DAG) üretimine artmasına neden olur. PKC, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), plazminojen aktivatör inhibitörü tip 1 (PAI-1), nükleer faktör kapp (NFκB) ve tümör nekrozis faktör beta (TGF-β) dahil olmak üzere vazokonstriksiyona neden olan çoklu ajanların üretimini uyarır. Sonuç olarak vazokonstriksiyon, bazal membran kalınlaşması ve endotelial proliferasyon oluşur. Bu değişiklikler kan akışını azaltır. Sural sinir biyopsileri, mikrovasküler hastalığın diyabetik nöropatiye katkıda bulunduğunu doğrulayan endonöral mikrodamarların anormalliklerini göstermektedir.

2.2.5.6. Poli (ADP-riboz) Polimerazın Aktivasyonu

Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), serbest radikaller ve oksidanlar tarafından uyarılan nitrozatif-oksitatif strese bağlı bir nükleer enzimdir. Glukotoksisite ayrıca endotel hücrelerinde, Schwann hücrelerinde ve duyu nöronlarında bol miktarda bulunan PARP ile bağlantılıdır. Son verilere göre oksitatif stres, PARP’ı hem indükler hem de aktive eder. PARP, nükleer proteinlere bağlı

nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD⁺), nikotinamide ve ADP-riboza dönüştürür. NAD⁺'ın tükenmesi, gen transkripsiyonu ve ekspresyonunda değişikliğe, serbest radikal konsantrasyonlarında artışa ve glikolitik ara ürünlerin spesifik alternatif yollara yeniden yönlendirilmesine neden olabilir (Pathak ve ark. 2022).

Bu tür azalmış sinir iletim hızı, nörovasküler anormallikler, retinopati, termal ve mekanik hiperaljezi, küçük lif nöropatisi ve dokunsal allodini, PARP ile ilişkili hastalıkların semptomlarıdır (Pacher ve ark. 2002).

2.2.6. Diyabetik Periferik Nöropatik Ağrının Klinik Özellikleri

Diyabetik periferik nöropati muhtemelen diyabetik nöropatilerin en sık görülen şeklidir. Hem Tip 1 hem de Tip 2 DM'de benzer sıklıkta görülür ve tip 2 DM tanısı konduğunda zaten mevcut olabilir (Vinik ve ark. 2013).

Tip 1 DM'li hastaların %30'u ve tip 2 DM'li hastaların %36 ila %40'ı nöropatik semptomlar yaşamaktadır. Duyusal semptomlar motor semptomlardan daha belirgindir ve genellikle alt ekstremiteleri içerir; bunlar arasında ağrı, paresteziler, hiperesteziler, derin ağrı, yanma ve akut duyusal nöropatide tanımlananlara benzer ancak ondan daha az şiddetli keskin bıçak batma hissi yer alır. Ek olarak, nöropati hemen tanınıp tedavi edilmezse hastalar, ayaklarda ve bacaklarda uyuşma gibi olumsuz semptomlar yaşayabilir. Bu durum zamanla ağrısız ayak ülserlerine ve ardından amputasyonlara yol açabilir. Anormal propriyosepsiyon ve kas duyu fonksiyonu nedeniyle dengesizlik de sıklıkla görülür (Cavanagh ve ark. 1993; Katoulis ve ark. 1997).

Bazı hastalar tamamen asemptomatik olduğundan belirtiler ancak ayrıntılı bir nörolojik muayene ile tespit edilebilir. Fizik muayenede genellikle her iki alt ekstremitede simetrik, çorap benzeri duyusal anormallik dağılımı görülür. Daha ciddi vakalarda eller de tutulabilir. Özellikle alt ekstremitelerde derin tendon refleksleri olmayabilir veya azalmış olabilir. Hafif kas kaybı görülebilir, ancak şiddetli güçsüzlük nadirdir ve nöropatinin olası bir diyabetik olmayan kökeni sorusunu gündeme getirmelidir. Periferik sinir hasarı ile ilişkili ağrının birkaç farklı klinik özelliği olup, bazıları arıların çorapları soktuğunu, bazıları ise sıcak kömürlerin üzerinde yürümekten bahseder. Geceleri daha da kötüleşen ağrı, hastayı uyanık tutar ve uyku yoksunluğu ile ilişkilidir (Vinik ve ark. 2005).

Hastalarda allodini, örneğin okşama veya yatak örtüsüne dokunma gibi normal uyarılardan kaynaklanan ağrı ve hiperestezi (dokunmaya karşı artan hassasiyet) veya hiperaljezi olabilir. Bu semptomlar hastalarda paradoksal olabilir. Ağrı, birkaç yıl boyunca devam edebilir, bazı hastalarda önemli ölçüde sakatlığa ve yaşam kalitesinin bozulmasına neden olurken, diğerlerinde küçük lif işlevinde daha fazla bozulma olmasına rağmen ağrı kısmen veya tamamen düzelebilir (Vinik ve ark. 2013).

2.2.7. Diyabetik Nöropati Tanısı

Diyabetik nöropati, diyabetli hastalarda diğer etiyojiler dışlandıktan sonra semptomların ve/veya periferik sinir disfonksiyonu belirtilerinin varlığıdır. Tipik olarak, daha fazla semptom veya sinir disfonksiyonu belirtisinin varlığı, tanı hakkında daha yüksek kesinlik sağlar, ancak alt ekstremitte sinir iletim hızındaki anormallikler ve sinir iletim çalışmalarında değerlendirilen duyu ve motor sinir amplitüdüleri daha da fazla kanıt sağlar.

Hastaların büyük çoğunluğu için diyabetik nöropati tanısı yalnızca öykü ve muayeneye dayanır ve ek test gerekmez. Objektif doğrulayıcı testler yaygın olarak araştırma ortamında veya atipik klinik sunumları olan hastaların tanısız çalışmasının bir parçası olarak kullanılır.

Diyabetik nöropatinin klinik bulguları, “çorap ve eldiven” şeklinde iğne batması, sıcaklık (bazen soğuk), titreşim ve propriyosepsiyona karşı duyu kaybıdır. Bu duyu modaliteler, başlangıçta, alın gibi normal tepkilerin beklendiği bir bölgeye duyu uyarının uygulanmasıyla test edilir. Bunu takiben, uyarı başparmağa uygulanır ve daha sonra uzvun proksimalinden duyunun normal olduğu hissedilen seviyeye kadar taşınır. İğne batması hissi, her hastadan sonra atılan çengelli iğne gibi keskin bir nesne kullanılarak test edilirken sıcaklık, metalik bir nesne gibi soğuk bir malzeme kullanılarak test edilir.

Titreşim, ayak başparmağının arkasındaki kemik çıkıntıya titreşimli bir diapazon uygulanarak ve ardından titreşimin ne zaman durduğunu belirleyerek test edilir ve başparmağın distal interfalangeal eklemine küçük hareketleriyle propriyosepsiyon incelenir. İğne batması ve ısı duyularına küçük sinir lifleri aracılığıyla ederken, titreşim duyu ve propriyosepsiyona büyük sinir lifleri aracılığıyla eder.

Ayak bileği reflekslerinin kaybı, diyabetik nöropatide erken ortaya çıkar; bu nedenle, ilk muayene refleks testini içermelidir. Daha sonra küçük ayak kaslarında ve

dorsifleksörlerde güçsüzlük görülür. Birçok hasta semptomatik zayıflık fark etse de, muayenede majör zayıflık sadece ileri diyabetik nöropatinin sonraki aşamalarında görülür. Üst ekstremitelerdeki erken nörolojik disfonksiyon, mononöropati veya alternatif bir tanı şüphesini artırmalıdır (Feldman ve ark. 2019).

Diyabetik nöropatinin semptomları ve klinik belirtileri, nöropati varlığı için eşik değerleri tanımlayan Toronto Klinik Nöropati Skoru, modifiye Toronto Klinik Nöropati Skoru veya Michigan Diyabetik Nöropati Skoru gibi ölçeklerde değerlendirilebilir (Singleton ve ark. 2008).

Doğrulanmış diyabetik nöropati teşhisi için genellikle sinir iletim çalışmaları yapılabilmektedir. Sinir iletim çalışmaları, üst ve alt ekstremitelerde motor ve duyuşal sinir liflerini test eden yüzey uyarıcı ve kayıt teknikleriyle gerçekleştirilir. Diyabetik nöropatili hastalarda sinir iletim çalışmalarındaki değişiklikler arasında amplitüde azalma, iletim hızlarında azalma ve uzamış F yanıtları bulunur. Sinir iletim çalışmaları, küçük lifli nöropatisi olan hastalarda normaldir. Küçük lifli nöropatinin teşhisi için altın standart deri zımba biyopsisi ile intraepidermal sinir lifi yoğunluğunun ölçülmesidir ancak bu invaziv yaklaşım rutin tanıda nadiren gereklidir ve öncelikle araştırma amaçlı kullanılır (Feldman ve ark. 2019).

2.2.8. Diyabetik Nöropatinin Tedavisi

Diyabetik nöropatinin tedavisi için iki temel yaklaşım söz konusudur. Bunlar; zemindeki patojenik bozuklukları hedefleyen patojenik tedavi yaklaşımı ve ağırlı belirtilerin giderilmesi için uygulanan semptomatik tedavidir. Patojenik tedavinin temel unsuru gliseminin sürekli kontrol altında tutulmasıdır. Hastaların çoğunda ağırlı belirtilerin giderilmesi için farmakolojik tedaviye de gereksinim duyulmaktadır. Gabapentin ve pregabalin gibi antikonvülzanlar, amitriptilin, imipramin, duloksetin ve venlafaksin gibi antidepresanlar; tramadol gibi opioidler ve kapsaisin, klinikte semptomatik tedavi için kullanılan sınırlı sayıdaki ilaçlardır. Kan glukoz kontrolünü ve kardiyovasküler risk faktörlerini iyileştirmeye ek olarak, DPN'nin klinik tedavisi, başlıca klinik semptomları hafifletir. Tedavi ayrıca sinir onarımı, oksidatif stresin giderilmesi, mikro dolaşımın artırılması ve metabolik bozuklukların iyileştirilmesini hedefler (Jia ve ark. 2019) (Şekil 2.2).

Ağırlı DPN'nin yönetimi de aynı şekilde, hiperglisemiye iyileştirmenin ve kardiyovasküler risk faktörlerini düzeltmenin yanı sıra, hastalığın semptomlarını

tedavi etmeye odaklanır. Antidepresanlar ve antikonvülzanlar, DPN semptomlarını hafifletmek için en sık kullanılan ajanlardır (Yang ve ark. 2022).

DPN'nin erken evresinde tedavinin belirli iyileştirici etkisi vardır; ancak, geç aşamada lezyonlar geri dönüşü olmayan sinir hasarına ve tedavi sonuçlarında kötüleşmeye neden olabilir.

Tablo 2.5' de belirtilen çok sayıda DPN tedavisi incelenmiştir; bununla birlikte, DPN'nin nedenini veya semptomlarını tamamen iyileştiren tek bir yöntem bildirilmemiştir. Bunun nedeni DPN'nin patogenezinin henüz tam olarak anlaşılabilmesi olabilir. Tek bir ilacın veya en az yan etkiye sahip bir kombinasyonun belirlenmesi çalışmaları zor olsa da devam etmektedir.

2.2.8.1. Trisiklik Antidepresanlar

Trisiklik antidepresanlar (TCA)'ın analjezik etkinlikteki kesin etki mekanizması belirsiz olup, serotonin ve norepinefrin nöromodülasyonu yoluyla beyindeki opioid sistemini dolaylı olarak modüle ettikleri düşünülmektedir.

2011 yılında yayınlanan ağırlı DPN üzerine ortak bir raporda, amitriptilin'in TCA'lar arasında en büyük etkinliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Bril ve ark. 2011). Yakın zamanda Rudroju ve arkadaşları tarafından yapılan bir meta-analiz, amitriptilin'in ağırlı DPN'yi tedavi etmek için kullanılan diğer antidepresan ajanlarla karşılaştırıldığında en az etkili ancak iyi tolere edilen bir ajan olduğu sonucuna varılmıştır. TCA'lar, DPN'de ağrı yönetimine ilişkin beş uluslararası kılavuzun tümünde birinci veya ikinci sıra tedavi önerisi olarak bulunur ve çoğu TCA'lar arasında tercih edilen ilaç olarak amitriptilini vurgular (Iqbal ve ark. 2018).

ADA 2017 yılında, nöropatik ağrının tedavisi için etkili olmasına rağmen, TCA'ların özellikle yaşlı popülasyonlarda yüksek risk profilleri nedeniyle dikkatli kullanılması gerektiğini belirtmiştir (Pop-Busui 2017).

Tablo 2.5. Ağrılı Periferik Diyabetik Nöropati'nin Tedavisi (Yang 2022).

İlaçlar	Toplam günlük doz veya protokol	Etki Mekanizması
Amitriptilin	25 - 100 mg/gün	Norepinefrin ve serotonin geri alımının inhibisyonu
Venlafaksin	75 - 225 mg/gün	
Duloksetin	60 - 120 mg/gün	
Pregabalin	300 - 600 mg/gün	Voltaja bağlı kalsiyum kanal modülasyonu, nörotransmitter salımının azaltılması
Gabapentin	900 - 3600 mg/gün	
Tramadol	200 mg - 400 mg/gün	Norepinefrin ve serotonin geri alımının inhibisyonu Zayıf μ -opioid reseptör agonist
Oksikodon	37 mg - 120 mg/gün	Merkezi sinir sisteminin sinaptik sinir hücre zarındaki opioid reseptörlerini aktive eder
Lidokain	12 saate kadar günde bir ağrı bölgesi	Lokal anestezi
Kapsaisin bantı	30 - 60 dk boyunca her 3 ayda bir ağrılı bölgelere 1 - 4 bant	Vanilloid reseptörü agonisti, duyuusal nöronlardan P maddesini açığa çıkararak tüketir.

2.2.8.2. Serotonin Geri Alım İnhibitörleri

Sitalopram ve fluoksetin gibi seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) nöropatik ağrı için kullanılır, ancak terapötik etkinliği sınırlıdır. Düşük dozlarda serotonin, yüksek dozlarda norepinefrin geri alımını inhibe eden venlafaksin, plaseboya göre daha etkili bulunmuştur (Sing ve ark. 2014). Duloksetin, bir serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörü (SNRI) olup, DPN için ilk seçenek ilaç olarak kabul edilir (Pop-Busui 2017).

2.2.8.3. Pregabalin ve Gabapentin

Gabapentinoidler, dorsal kök gangliyonlarındaki presinaptik alfa-2-delta (α 2- δ) voltaj kapılı kalsiyum kanallarını (VGCC) bloke eden antikonvülzan ilaçlardır. Bu ajanlar, VGCC'nin α 2 δ -1 ve α 2 δ -2 alt birimleri için yüksek afiniteye sahiptir (James ve ark. 2022).

Pregabalin ağrılı DPN, post-herpetik nevralji, merkezi nöropatik ağrı ve fibromiyalji tedavisi için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylıdır. Gabapentin, herpetik sonrası nevralji için FDA onaylıdır, ancak diğer nöropatik ağrı durumları için de yaygın olarak kullanılır.

Gabapentinoidler ayrıca, uyku kalitesinin iyileştirilmesi ve anksiyolizde faydalıdır (Rosenberg ve Watson 2015).

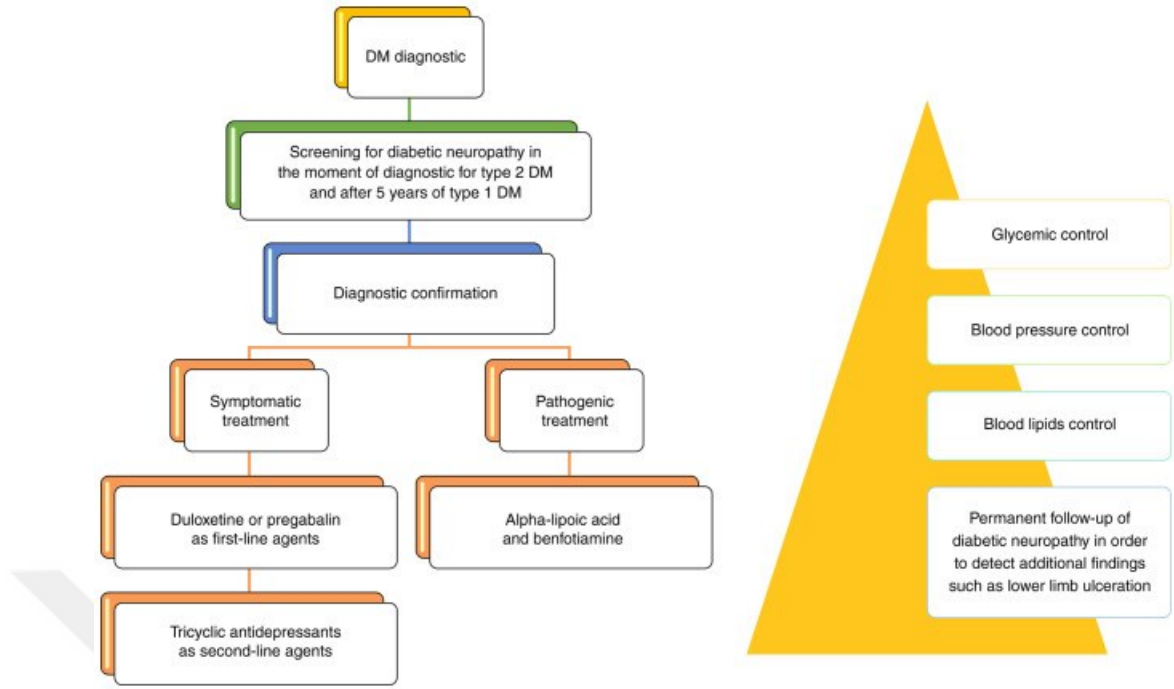
2.2.8.4. Alfa Lipoik Asid

Alfa lipoik asid (ALA), T tipi kalsiyum kanallarını seçici olarak inhibe ederek ağrıya karşı nöronal duyarlılığı azaltır. İntravenöz veya oral yolla uygulanan (600 mg/gün) ALA, ağrı skorlarında ve yaşam kalitesinde önemli iyileşme göstermiştir, ancak uzun süreli çalışmalar eksiktir (Agathos ve ark. 2018).

2.2.8.5. Topikal Analjezikler

Bazı klinik kılavuzlar, özellikle lokalize ağrıları olan ve oral ilaçları tolere edemeyen kişilerde ağrılı DN için, topikal analjeziklerin düşünülmesini önermektedir. Topikal kapsaisin yakın zamanda ağrılı DN için FDA tarafından onaylanmıştır, ancak bu endikasyon için Birleşik Krallık'ta lisanslı değildir (NICE 2020).

Sinir lifindeki membran potansiyelini ve nörotrofik sinyali değiştirerek ağrıyı azalttığı varsayılmaktadır. Topikal lidokain ve topikal ketamin gibi diğer topikal analjeziklerin DN için etkili olduğunu gösteren randomize kontrollü klinik çalışmalar henüz yapılmamıştır (Derry ve ark. 2017).



Şekil 2.2. Diyabetik Nöropatinin Yönetimi (Bondar ve ark. 2021).

2.2.8.6. Opioidler

Bazı klinik kılavuzlar, ağrılı DN tedavisi için opioidlerin veya ağrı kontrol edilemiyorsa kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak düşünülmesini önermektedir (Tesfaye ve ark. 2011). Bununla birlikte, opioidler, kötüye kullanım açısından büyük bir zorluk teşkil etmektedir. Bu durum ve diğer riskler göz önüne alındığında, ADA ağrılı DN tedavisi olarak opioidleri önermemektedir ve NICE'a göre akut kurtarma tedavisi olarak sadece tramadol kullanılmalıdır (NICE 2020).

Tramadol, ABD ve Birleşik Krallık'ta spesifik olarak nöropatik ağrıdan ziyade orta ila şiddetli ağrı için ruhsatlandırılmıştır. Zayıf μ -opioid reseptör agonist etkilidir ayrıca norepinefrin ve serotoninin presinaptik geri alımını inhibe etmekte, aynı zamanda 5-HT'nin salınımını stimüle etmektedir (Raffa 1992). Norepinefrin ve serotonin geri alımını inhibe ettiği için SNRI'ler/SSRI'lar ile birlikte alınmamalıdır.

Tapentadol, ABD'de nöropatik ağrı için özel olarak ruhsatlanmış olup, analjezik etkisi tramadol ile benzerdir. Ancak tapentadol μ reseptörüne daha yüksek bir afiniteye sahiptir. Metadon ve oksikodon gibi diğer opioidlerin nöropatik ağrı tedavisinde kullanımlarını desteklemek için yeterli kanıt yoktur (Smith ve ark. 2022).

2.3. Ağrı

2.3.1. Ağrının Tanımı

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (IASP), ağrıyı “gerçek veya olası doku hasarı ile ilişkili veya buna benzer hoş olmayan bir duyuşsal ve duygusal deneyim” olarak tanımlamıştır (Raja ve ark. 2020).

2.3.2. Ağrının Sınıflandırılması

Ağrı genellikle yerine, süresine, sıklığına, altta yatan nedene ve şiddetine göre sınıflandırılır. Ağrının sınıflandırılması bu nedenle karmaşıktır. Yaygın olarak birkaç farklı sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır (Cole 2002).

Klinik tanı ve tedaviyi yönlendireceği için ağrı sınıflandırmalarının ve tanımlarının farkında olmak önemlidir. Örneğin, akut ağrının tedavisi kısa bir opioid tedavisi gerektirebilir, ancak bu ajan, kronik ağrıda çok dikkatli kullanılmalıdır. Ağrı kaynağının doğru teşhisi, ağrının yönetiminde kritik bir faktör olabilir (Abd-Elsayed ve ark. 2019).

En yaygın sınıflandırma şu şekildedir; (Thienhaus ve ark. 2002).

- Patofizyolojik mekanizmaya göre ağrı sınıflandırılması; nosiseptif veya nöropatik ağrı.
- Süresine göre ağrı sınıflandırılması; akut, kronik veya alt sınıflamalar.
- Etiyolojiye göre ağrı sınıflandırılması; malign veya malign olmayan ağrı.
- Anatomik konumuna göre ağrı sınıflandırılması.

2.3.2.1. Patofizyolojik Mekanizmaya Göre Ağrı Sınıflandırılması

Nosiseptif ağrı: Nosiseptif ağrı, potansiyel olarak dokuya zarar verebilecek gerçek uyarılara veya uyarılara ikincil olarak nöral yollardaki aktiviteden kaynaklanır. Nosiseptif ağrı, artriti ve spinal ağrının birçok formunu kapsayan kronik ağrının en yaygın şeklidir (DiBonaventura 2017). Normal aşınma ve yıpranma (dejeneratif disk hastalığı, faset artropatisi, primer osteoartrit), travma (örn. yanıklar, kas yırtılmaları, travmatik artriti), kas spazmı, viseral patoloji (örn. ülserler, böbrek taşları, pankreatit) yoluyla meydana gelen dejeneratif değişiklikler örnek olarak verilebilir.

Nöropatik ağrı: Nöropatik ağrı, IASP tarafından “somatosensoriyel sinir sisteminin bir lezyonu veya hastalığının neden olduğu ağrı” olarak tanımlanır (Raja ve ark. 2020). Diğer ağrı durumlarından, yanma veya donma ağrısı gibi karakteristik belirti ve semptomlarının yanı sıra uyuşma, karıncalanma veya iğnelenme hissi ile ayırt edilir (IASP 2014).

2.3.2.2. Süresine Göre Ağrı Sınıflandırılması

Akut ağrı: Akut ağrı, doku hasarının neden olduğu ağrıdır ve tıbbi bir durum veya yaralanma gibi devam eden zararlı bir sürecin uyarı işareti olabilir. Akut klinik ağrı tipik olarak yumuşak doku travması veya iltihabından kaynaklanır ve en yaygın örnek ameliyat sonrası cerrahi ağrıdır. Akut ağrı, altta yatan nedenin tedavisini ve hasarlı dokunun iyileşmesini takiben düzelir (Liu ve Kelliher 2022).

Kronik ağrı: Kronik ağrı, üç aydan daha uzun süre devam eden veya tekrarlayan ve doku hasarının iyileşmesi için normal olarak beklenen sürenin ötesinde devam eden ağrı olarak tanımlanır. Kronik ağrı zayıflatıcıdır ve genellikle depresyon, sosyal ve davranış bozukluğu ile ilişkilidir, tedavi edilmezse genellikle yıllar içinde artmaya devam eder (Liu ve Kelliher 2022).

2.3.2.3. Etiyolojiye Göre Ağrı Sınıflandırılması

Ağrının sebebine göre yapılan sınıflamadır. Örneğin; kansere, sistemik hastalıklara veya uygulanan tedaviye bağlı olarak ortaya çıkar. Ancak daha önceden var olan veya halen var olan kanser dışında bir neden de ağrıya yol açabilir (Abd-Elseyed ve ark. 2019).

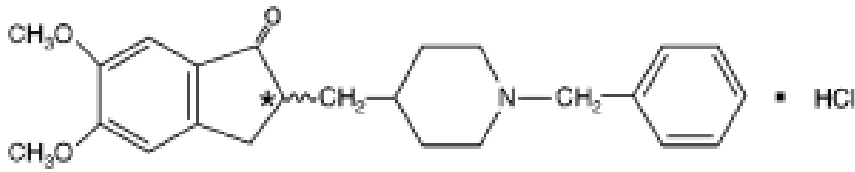
2.3.2.4. Anatomik Konuma Göre Ağrı Sınıflandırılması

Lokasyona göre sınıflandırılan ağrı, örneğin; baş, boyun veya sırt ağrısıdır (Turk ve Okifuji 2001).

2.4. Donepezil

Piperidin bazlı, geri dönüşümlü bir ikinci kuşak asetilkolinesteraz inhibitörü olan donepezil, günümüzde Alzheimer hastalığı tedavisi için en yaygın şekilde reçete edilen farmakolojik ajandır. Kolinesteraz inhibitörleri, bu endikasyon için FDA tarafından onaylanan ilk ilaç kategorisidir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri arasında en az yan etkiye sahip ilaçlardan olması donepezil’i bu grup içerisinde avantajlı kılmaktadır (Wilkinson ve Murray 2001).

Günümüzde pek çok AChE inhibitörü, hafif ve orta şiddette Alzheimer hastalığı 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).



Şekil 2.3. Donepezil Hidroklorür'ün Molekül Yapısı.

2.4.1. Donepezil'in Kimyasal Yapısı

(±)-2,3-dihidro-5,6-dimetoksi-2-[[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]metil]-1H-inden-1-on HCl(Prvulovic ve Schneider 2014) (Şekil 2.3).

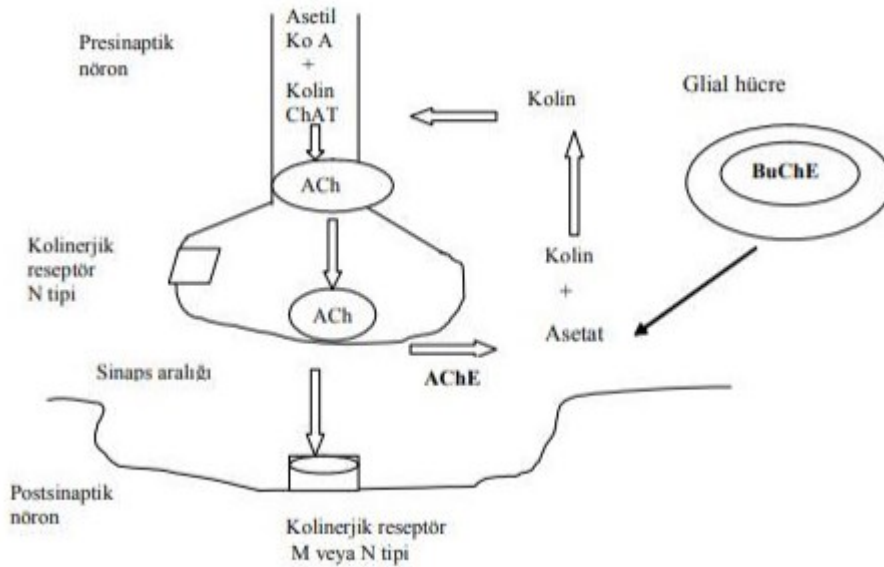
2.4.2. Donepezil'in Farmakolojik Özellikleri

Asetilkolin, sinaps ve kavşak aralığında bulunan AChE tarafından hidrolize uğrar, kolin ve asetik aside dönüştürülerek elimine edilir (Şekil 2.4). Antikolinesteraz ilaçlar, AChE enzimini inhibe ederek periferde nöromusküler kavşak ve otonomik gangliyonlardaki sinapslar dahil bütün kolinerjik kavşaklarda ACh birikmesi sonucu, postsinaptik membrandaki kolinerjik reseptörleri, aktive ederler (Kayaalp 2012). Donepezil, AChE inhibisyonu aracılığı ile hipokampüsteki sinaptik boşluklarda ACh konsantrasyonunu artırır. Kosasa ve ark. (1999) sıçanlarda 14 günlük donepezil uygulamasının ardından serebral ACh düzeyinin %35 oranında arttığını, AChE aktivitesinin ise beyinde %66 ve kanda %32 oranında azaldığını raporlamışlardır. Alzheimer hastalarında donepezil'in, uykunun REM dönemini, total uyku süresine oranla uzattığı, uyku verimini artırdığı ve uykuya dalış süresini kısalttığı kaydedilmiştir (Mizuno ve ark. 2004; Moraes ve ark. 2006). Çalışmalar, ayrıca donepezil'in Alzheimer hastalığının patogenezinde anahtar moleküllerden olan Aβ

peptidin işlevini engellediğini ve agregasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (Çakıroğlu 2009).

Sharifipour ve ark. (2014), donepezil'in nöroprotektif etkileri olduğunu, nAChR aracılı kaskad aracılığıyla koruyucu bir etki sergilediğini göstermiştir. nAChR'lerin uyarılması, NR1 / 2A alt birimlerini ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivitesini içeren glutamat reseptörlerinin down regülasyonunu hafifletebilir. Donepezil'in ayrıca AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK)'ı doza bağımlı bir şekilde aktive ettiği gösterilmiş olup, bunun ilacın yararlı nöroprotektif etkisinden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. Kawashiri ve ark. (2019) yakın zamanda yaptıkları çalışmada, donepezil'in sıçanlarda oksaliplatin'e bağlı nöropatik ağrıyı azalttığını göstermişlerdir.

Yine yakın zamanda gabapentin ile birlikte klinikte uygulandığında ağrı skorlarını azaltmada umut verici sonuçlar elde edilmiş olup donepezil, nöropatinin palyatif tedavisi için umut verici bir ajan olabileceği bildirilmiştir (Atef ve ark. 2019).



Şekil 2.4.Asetilkolin'in Metabolizması (Alaşehirli 2005).

Donepezil'in farmakolojik etkileri, büyük ölçüde bozulmuş kolinerjik sinir iletimini kolaylaştırmasıyla açıklanmaktadır. Donepezil, sigma-1 reseptörlerine yüksek afiniteyle bağlanır (Kato ve ark. 1999), hem kolinerjik hem de sigma-1

agonistik etkiye sahip benzersiz bir farmakolojik ajandır ve ayrıca donepezil'in patolojik koşullarda bilişsel etkilere katkıda bulunabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır (Prvulovic ve Schneider 2014). Asetilkolinesteraz inhibitörü ilaçlar, aynı zamanda büyüme faktörlerinin sentezini de artırmakta ve sinir hücrelerinin dejenerasyonunu azaltmaktadır (Rogers ve ark. 1998). Sağlıklı yaşlılarda, donepezil uygulamasını takiben GHRH'nin indüklediği büyüme hormonu (GH) cevabının %50'den fazla arttığı gözlemlenmiştir (Obermayr ve ark. 2005).

2.4.3. Farmakokinetik

Donepezil'in pik plazma konsantrasyonları, oral uygulamadan 3-4 saat sonra elde edilir ve oral biyoyararlanımı %100'dür. İlacın emilimi yiyeceklerden veya uygulama zamanından etkilenmez. Uzun süreli eliminasyon yarılanma ömrü (~ 70 saat) nedeniyle yatmadan önce tek doz önerilir (Jann ve ark. 2002). 5 mg doz ile terapötik seviyeler (30-64 µg/l) elde edilir. Donepezil, sırasıyla %75 oranında albümin ve %21 oranında α 1-asit glikoproteine olmak üzere plazma proteinlerine %96 oranında bağlanır (Jann ve ark. 2002).

Donepezil, sitokrom P450 (CYP) sistemi izoenzimleri (CYP 2D6 ve 3A4) tarafından metabolize edilir ve glukuronidasyona uğrar. Tek aktif metabolit, ilacın plazma konsantrasyonunun %20'sini oluşturan bir hidroliz ürünü olan 6-O-desmetil-donepezil'dir. Bu metabolit, ana ilaçla eşit farmakolojik aktiviteye sahiptir. Değişmemiş donepezil ve metabolitleri idrarla atılır (Román ve Rogers 2004).

Donepezil, kan beyin bariyerini kolayca geçebilen ve hepatotoksik yan etkileri olmayan bir ilaçtır (Sugimoto ve ark. 2002).

2.4.4. Donepezil'in İlaç Etkileşimleri

Donepezil, albümine yalnızca %75 oranında bağlı olduğundan, furosemid, digoksin ve varfarin gibi plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanan ilaçlarla etkileşimi yok gibi görünmekte olup, önemli protein bağlama etkileşimlerinin meydana gelmesi olası değildir. Ayrıca donepezil'in furosemid, teofilin, simetidin, varfarin ve digoksin gibi diğer ilaçlarla metabolizma düzeyinde de etkileşimi yoktur (Jann ve ark. 2002; Prvulovic ve Schneider 2014).

Sırasıyla CYP 3A4 ve CYP 2D6 inhibitörleri olan ketokonazol ve kinidin, donepezil'in metabolizmasını in vitro olarak inhibe eder. Donepezil ve ketokonazol'ün birlikte uygulanması donepezil'in C_{max}'ını önemli ölçüde artırır (Pratt ve ark. 2002).

Fenitoin, karbamazepin, deksametazon, rifampin ve fenobarbital gibi CYP 2D6 ve 3A4 indükleyicileri donepezil'in eliminasyon hızını artırabilir.

2.4.5. Donepezil'in Yan Etkileri ve Güvenlik Profili

Donepezil, günde 10 mg'a kadar olan dozlarda güvenli ve iyi tolere edilebilen bir ajandır. İstemsiz 10 kat donepezil doz aşımı, atropin ile kontrol edilen bradikardi ile sonuçlanmıştır.

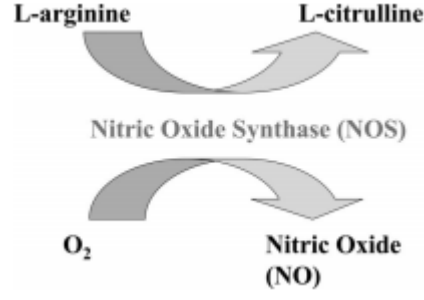
Donepezil alan hastalarda en yaygın yan etkiler bulantı, kusma, ishal, uykusuzluk, kas krampları, yorgunluk ve anoreksidir. Bu yan etkiler, ChE inhibisyonunun neden olduğu artan kolinerjik aktiviteyi yansıtır. Donepezil ile senkop meydana geldiği bildirilmiştir (plasebo için %1'e karşı %2). Bradikardi, kardiyak dal bloğu olan hastalarda ve ayrıca astımı veya kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda dikkatli olunması önerilir. Donepezil tedavisi sırasında kilo kaybı meydana gelebilir. Artan gastrik asit sekresyonu ChE inhibitörleri tarafından indüklenebilir; ülser öyküsü olan veya eşzamanlı NSAID alan hastalar gastrointestinal kanama açısından yakından izlenmelidir. Donepezil ile deliryum ve mani nadiren bildirilmiştir. Donepezil tedavisinin nadir görülen yan etkileri arasında, purpurik döküntü ve geçici idrar kaçırma sayılabilir (Román ve Rogers 2004).

2.5. Nitrik Oksit

Nitrik oksit, gaz halinde, elektriksel olarak nötr bir serbest radikaldir. Hem suda hem de lipide serbestçe çözünür, hücre zarları boyunca ve hücreler arasında konsantrasyon gradyanları boyunca yayılır. Çözeltide NO, yalnızca 0.1 ila 10 sn'lik bir yarı ömre sahiptir. Bu özelliklerin bir sonucu olarak, güçlü bir hücre içi ve hücreler arası sinyal molekülü olarak işlev görebilir.

L-arjinin amino asidi, NO ve L-sitrülin veren nitrik oksit sentazın (NOS) üç izoformundan birinin aracılık ettiği bir enzimatik reaksiyonda üretilen NO'nun biyosentetik öncüsüdür (Levy ve ark. 2005) (Şekil 2.5).

Nitrik oksit, merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter veya nöromodülatör görevi görür. NO, sinaptik veziküllerde depolanmadığı ve ekzositoz yoluyla salındığı için geleneksel bir nörotransmitter değildir. NO, kofaktörler olarak NADPH, FMN (flavin mononükleotit), FAD (flavin adenin dinükleotit), kalmodulin, heme ve tetrahidrobiopterin (BH₄) kullanılarak L-arjinin'in sitriline dönüştürülmesi sırasında NOS tarafından üretilir (Ahlawat ve ark. 2014).



Şekil 2.5. Nitrik Oksit Sentezi.

2.5.1. Nitrik Oksit Sentetaz

Furchgott, ilk olarak tavşan aortasında yapılan deneylerde NO oluşumundan sorumlu NOS'ları tanımlamıştır (Furchgott ve Zawadzki 1980). NOS'un farklı formları, ilk izole edildikleri hücrelere göre tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Bunlar nöronal NOS (nNOS, tip 1 NOS) bakteriyel endotoksinler ve sitokinler ile stimülasyon üzerine makrofajlarda indüklenen, indüklenebilir NOS (iNOS, tip 2 NOS), endotelial NOS (eNOS, tip 3 NOS) ve bazı dokularda mitokondride (mNOS) bulunabilirler.

Merkezi sinir sisteminde, nNOS baskın formdur, eNOS kan damarlarında bulunur. NOS enzimleri sadece lokalizasyonlarında değil aynı zamanda fonksiyonlarında da farklılık gösterir (MacMicking ve ark. 1997). Kalsiyuma bağımlı iki yapısal NOS, eNOS ve nNOS, küçük miktarlarda NO üretirken, hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarından bağımsız olan iNOS, hücrelere ve mikroorganizmalara zarar verebilecek NO seviyeleri üretebilir (Miclescu ve Gordh 2009).

2.5.2. Nitrik Oksidin Fizyolojik Etkileri

Nitrik oksit, yaygın bulunan pleiotropik bir sinyal molekülü olarak bilinir ve hemen hemen her sistemde önemli roller oynayan biyolojik bir düzenleyicidir. Güçlü bir vazodilatördür, trombosit agregasyonunun inhibisyonu, vasküler düz kas proliferasyonunun inhibisyonu ve kan basıncının kontrolü ile vasküler homeostazda anahtar düzenleyici olarak kabul edilir. Nöral iletim, hafıza, apoptoz, üreme, lipoliz, enerji dengesinin düzenlenmesi ve konak savunması, NO'nun rol oynadığı diğer fizyolojik süreçler arasındadır (Ghasemi ve Zahediasl 2011).

Nitrik oksit, hipotalamus-hipofiz ekseninde hormon salınımını düzenler, prolaktin salgısını inhibe eder ve steroidogeneizde rol oynayabilir. Ayrıca insülin ve

karbonhidrat metabolizmasının etkilerini düzenleyebilir (Hintze 2001). NO'nun tiroisit/tiroid fonksiyonunda da rolü vardır. NO'nun bir öncüsü olan sodyum nitroprussid insan tiroisitlerinde cGMP'yi artırır. Östrojenler, eNOS gen ekspresyonunun uyarılması yoluyla NO sentezini ve salınımını artırır (Vargas ve ark. 2007).

2.5.3. Nitrik Oksit ve Nöropatik Ağrı

Nitrik oksit, ağrıyı modüle etmede önemli bir rol oynar. Nitrozatif stres, nöropatinin karakteristik bir özelliğidir. Bununla birlikte, nöropatinin patofizyolojisinde NO ve NOS'ların rolü tam olarak ortaya çıkarılamamıştır (Ahlawat ve ark. 2014).

Nitrik oksit, nosiseptif süreçte yer alan önemli bir nörotransmitterdir. Yapılan çalışmalarda, NO'nun ağrıdaki ayırt edici rolünün altında yatan çoklu mekanizmalar yoluyla spinal ve duyuşal nöron uyarılabilirliğini modüle ettiğı gösterilmiştir (Luo ve Cizkova 2000). Yaralanma bölgesindeki düşük NO seviyeleri antinoseptif etkiler gösterirken, daha yüksek konsantrasyonlarda NO, pronoseptif etkilere sahiptir (Hamza ve ark. 2010).

Nitrik oksit sentazın nöronal izoformu tarafından NO'nun aşırı üretimi, nörodejeneratif bozuklukların ve nöropatik ağrının altında yatan temel nedenlerden biridir (Mukherjee ve ark. 2014). Ayrıca yüksek NO seviyeleri DPN ile ilişkili bulunmuştur (Sharma ve ark. 2007).

2.5.4. Nitrik Oksit Sentaz Substratları

- L-arjinin (L-Arg)
- L-homoarjinin (L-homoArg)
- Nv-hidroksi-L-arjinin (L-OHAr) (Moncada ve ark. 1997).

2.5.5. Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörleri

Literatürde tanımlanan ve farmakolojik çalışmalarda kullanılan çok sayıda NOS inhibitörü vardır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanları monometil-L-Arjinin (L-NMMA), N-amino-L-arjinin (L-NNA), nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve aminoguanidin (AMG)dir (Alderton ve ark. 2001).

Nitrik oksit sentezi bazı kompetitif inhibitörler tarafından inhibe edilmektedir. Bunlar L-arjinin analogu olanlar ve olmayanlar şeklinde ikiye ayrılabilir:

L-Arjinin analogları;

- Monometil-L-arjinin (L-NMMA),
- Nitro-L-arjinin (L-NA),
- N-amino-L-arjinin (L-NAA),
- Nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME)

L-Arjinin analogu olmayan inhibitörler ise;

- 7-nitroindazol (7-NI),
- Aminoguanidin (AMG),
- İminoetil-L-ornitin (L-NIO)
- Merkптоetil guanidindir.

NOS inhibitörleri içinde sadece agmatin (AGM) endojen NOS inhibitörü olarak kabul edilmektedir. AMG, NOS'un üç izoformunu kompetitif olarak inhibe eder (Moncada ve ark. 1997).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi (NEÜ) Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 06.07.2021 tarih ve 2021-38 sayılı izni ile Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Araştırma, NEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 211418002 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. Deneysel Tasarım

Çalışmada Wistar albino ırkında, 12-15 haftalık, ortalama 250-300 gr ağırlığında 56 adet erkek sıçan kullanıldı.

Tüm sıçanlar, KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde 22 ± 2 °C'lik kontrollü bir ortamda, %50'lik nemli ve sessiz koşullarda, yiyecek ve suya ad libitum erişimi olan 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüleri altında, normal sıçan kafeslerinde, kafes başına dörder adet olacak şekilde barındırıldı. Sıçanlar deney boyunca standart pellet yem ve musluk suyu ile beslendi. Deneysel tüm aşamalar Etik Kurul esaslarına uygun olarak çalışıldı.

3.1.1. Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması

Deneylelerde diyabet oluşturmak için 12 saat aç bırakılmış sıçanlara 0,1 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) ile taze hazırlanmış 55 mg/kg streptozotosin (STZ) intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi (Bhatt ve Adepalli 2010). Ani ve şiddetli hipoglisemiyi önlemek için, STZ enjeksiyonundan sonraki 24 saat boyunca %5'lik glukoz solüsyonu içme suyu olarak sıçanlara verildi (El-Baz ve ark. 2020). STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra kuyruk venlerinden alınan kandan glukometre (Accu-Chek Instant, Roche) ile kan-glukoz değerleri ölçüldü, kan glukoz değerleri 250 mg/dl'nin üzerinde olan sıçanlar diyabetik (Grup 2,3,4,5; Diyabet grubu, n=48) kabul edilerek deneylelere dahil edildi (Oghbaei ve ark. 2017).

Kontrol grubu olan diyabet oluşturulmayan Grup-1 sıçanlara STZ çözücüsü sitrat tamponu ip olarak uygulandı (Grup 1; Kontrol grubu, n=8).

Kontrol grubu (diyabet oluşturulmayan Grup-1) sıçanlar ilk gün 1'den 8'e kadar, diyabet grubu sıçanlar ise 1'den 48'e kadar numaralandırıldı.

3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda 5 grup oluşturuldu.

Grup-1 (n=8) Kontrol grubu: Kontrol grubundaki sıçanlara 4 hafta sonra oral yolla %0,9 NaCl 20 gün süreyle uygulandı.

Grup-2 (n=10) Diyabet grubu (STZ): Diyabetik sıçanlara 4 hafta sonra oral yolla %0,9 NaCl 20 gün süreyle uygulandı.

Grup-3 (n=10) STZ + Donepezil grubu: Diyabetik sıçanlara 4 mg/kg donepezil oral yolla (Atef ve ark. 2019) 20 gün süreyle uygulandı.

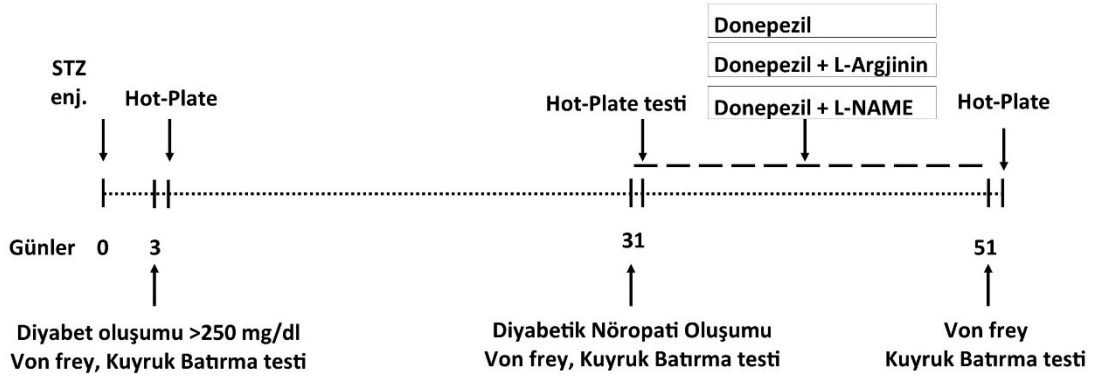
Grup-4 (n=10) STZ + Donepezil + L-Arjinin grubu: Diyabetik sıçanlara donepezil uygulamasını takiben 30 dk sonra NO prekürsörü L-arjinin 40 mg/kg ip olarak 20 gün süreyle (Mete ve Aksu 2015) uygulandı.

Grup-5 (n=10) STZ + Donepezil + L-NAME grubu: Diyabetik sıçanlara donepezil uygulamasını takiben 30 dk sonra NOS inhibitörü nitro-L-arjinin metilester (L-NAME; 20 mg/kg ip) (Patil ve ark. 2004) 20 gün süreyle uygulandı.

Diyabetik sıçanlar, (Grup 2-5) her grupta 10 adet sıçan olacak şekilde randomize dağıtıldı. Dördüncü haftadan deney sonuna kadar Grup-2'den 2 adet sıçan kaybedildi. Yirmi günlük ilaç uygulama sürecinde ilaç gruplarında sıçan kaybı yaşanmadı. Diyabet oluşumundan DN gelişimine kadar geçen 4 haftalık sürede diyabet grubunda toplam 8 adet sıçan kaybı yaşanmış olup, istatistiksel analizlerde diyabet grubunda ölen sıçanların değerleri çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışma 46 sıçanla tamamlanmıştır.

3.1.3. Deneysel Metod

Diyabet oluşturulan deney hayvanlarında periferik nöropati gelişimi için dört hafta süre ile beklendi (Yan ve ark. 2012). Bu sürenin sonunda von Frey filamentleri, hot plate ve kuyruk batırma testleri uygulanarak nöropati oluşumu teyit edildi. Von Frey testi ile mekanik allodini, hot plate ve kuyruk batırma testleri ile de termal hiperaljezi değerlendirildi. Diyabet grubundaki (Grup 2,3,4 ve 5) tüm sıçanlarda nöropati oluştuğu gözlemlendi.



Şekil 3.1. Deney Çalışma Takvimi.

Nöropati gelişen sıçanlar, grupların kendi içerisinde homojen ve gruplardaki sıçan ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek 4 ayrı gruba randomize olacak şekilde (2.-5.gruplar) dağıtıldı.



Resim 3.1. Oral Gavaj ve İntraperitoneal İlaç Uygulaması.

İlaç içeren solüsyonlar deneylerden hemen önce hazırlandı. Streptozotosin, 0,1 M sodyum sitrat tamponu (pH 4,5) içinde, donepezil hidroklorid, nitro-L-arjinin metilester (L-NAME) ve L-arjinin %0,9 NaCl içinde çözülerek hazırlandı.

Deney protokolüne göre günlük uygulama ve testler, her gün aynı saatte (14:00 -16:00) ve uygulamaları takiben 1 saat sonrasında aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi.

Termal ve mekanik ağrı yanıtı ölçümleri STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra, dört hafta sonra ve yedi hafta sonra olmak üzere toplam üç kez yapıldı. Von Frey ve kuyruk batırma testi aynı gün, hot plate testi ise bir gün sonrasında uygulandı. Kontrol gruplarının termal ve mekanik ağrı algıları da eş zamanlı olarak ölçüldü ve yanıt süreleri her bir hayvan için ayrı ayrı kaydedildi. Sıçanların kan glukoz değerleri ve vücut ağırlıkları yedi hafta boyunca ölçülerek haftalık kaydedildi.

3.1.4. Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar

- Streptozotosin (Sigma-Aldrich, ABD, S0130)
- L-arjinin (Sigma-Aldrich, ABD, A5006)
- L-NAME (N ω -Nitro-L-arjinin metil ester hidroklorür) (Sigma-Aldrich, ABD, N5751)
- Donepezil hidroklorür (İLKO İlaç, Türkiye)
- %0,9 İzotonik sodyum klorür (POLİFARMA İlaç, Türkiye)
- Sitrat Tamponu 0,1 M pH=4,5
- Ketamin (Alfamin, Alfasan IBV), Ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV)

3.2. Mekanik Allodinin Değerlendirilmesi

3.2.1. Von Frey Filament Testi

Manuel von Frey kullanılarak mekanik duyarlılığı belirlemek için, “yukarı-aşağı”, “artan uyarın” veya “yüzde tepki” yöntemi dahil olmak üzere farklı metodolojik yaklaşımlar kullanılabilir.

Çalışmada sıçanların mekanik duyarlılığı (allodini) 20 filamanttten oluşan von Frey filamentleri (Bioseb, BIO-VF-M) kullanılarak, yukarı-aşağı yöntemi ile belirlendi (Chaplan ve ark. 1994).

Sıçanlar teste başlamadan bir saat önce ortama alışmaları için barınaklarından test alanına taşındı. Pleksiglastan yapılmış üstten kapaklı, altları boş iki bölmeden oluşan iki adet ayrı kafes, 90x38 cm boyutunda 5x5 mm lazerle kare deliklerden oluşturulmuş 45 cm yüksekliğinde metal bir platformun üzerine yerleştirildi. Her seferinde gruplardan 4 adet sıçan pleksiglas kafes bölmeleri içine alındı ve en az 15 dk

olmak üzere bölmelerin içinde bekletildi. Daha sonra von Frey filamentleri platformun altından 90 derece dik olacak şekilde sol arka pençenin plantar yüzeyine 2-5 sn süresince hafif bir bükülme görülene kadar yukarı doğru basınçla uygulandı. Herhangi bir yanıt gözlenmezse, bir sonraki daha yüksek kuvvet filamenti kullanıldı. Bir yanıt gözlemlendiğinde, bir sonraki en hafif filamentle devam edildi. Pozitif yanıtlar (X), negatif yanıtlar (O) olarak işaretlendi. Yanıtta ilk yön değiştikten sonra (pozitiften negatife veya negatiften pozitifte) dört kez daha aynı protokolle filamentler uygulandı. Yön değiştirme ile beraber en az altı adet (X) veya (O) yanıtı kaydedip o sıçan için test sonlandırıldı. Orijinal olarak tarif edildiği gibi “yukarı-aşağı” yöntemi izlenerek en az altı ölçüm gerçekleştirildi (Dixon, 1980; Chaplan ve ark. 1994).

Sonuçlar oluşturulan tabloya işaretlendi. Sıçanın patisini çekmesi, yalaması veya sallaması pozitif (X) yanıt olarak kabul edildi. Bu işaretlemeler %50 geri çekme eşiğini hesaplamak için kullanıldı. Tekrarlayan pençe sallama veya yalama, uyarana saldırma veya kaçma niyeti gibi ağırlı bir davranışla birlikte güçlü ve ani bir pençe geri çekilmesi, olumlu bir tepki olarak kabul edildi.



Resim 3.2. Von Frey Testi Uygulaması.

3.3. Termal Hiperalejinin Değerlendirilmesi

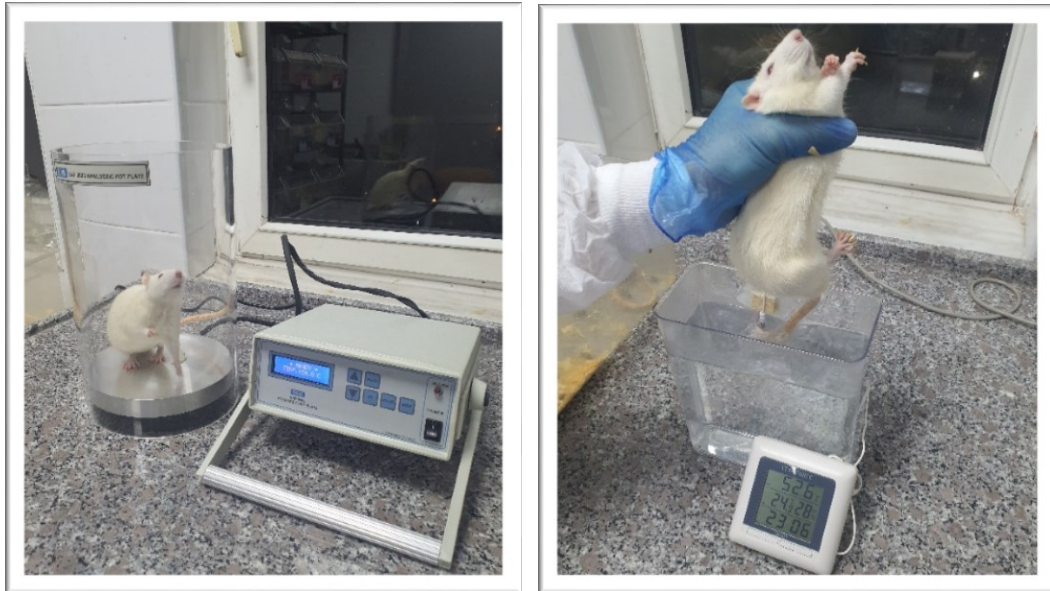
3.3.1. Hot Plate Testi

Hot plate testi için, daire şeklinde metal düz yüzeyi bulunan ve önceden ısıtılmış hot plate cihazı (May Tic., Ankara) kullanıldı. Sıcaklığı 55 °C'ye ayarlanmış ve yanları deneklerin dışarı çıkmalarını engelleyecek cam silindir şeklinde bir bariyerle kapatılmış tabla bölümüne sıçanlar bırakıldı. Sıçanların tablaya bırakıldıkları andan itibaren, ekstremitelerini hızla çekmeleri veya yalamalarına kadar geçen süre sn cinsinden kronometre kullanılarak kaydedildi. Bu testin uygulanması esnasında ortamın sessizliğine dikkat edildi ve deneyin bitirilme süresi olarak 30 sn olarak belirlendi (Crawley 2001).

3.3.2. Kuyruk Batırma Testi

Hayvanın kuyruğunun ucundan itibaren üç cm'lik kısmı bir beher içerisinde bulunan $52,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ sıcaklığındaki suya batırıldı. Kronometre ile hayvanın kuyruğunun suyun içine batırıldığı andan, suyun dışına doğru hızlıca çekmesine kadar geçen süre kaydedildi. Hayvanların kuyruklarının sıcaktan zarar görmesini engellemek için deneyin bitirilme süresi 15 sn olarak belirlendi (Scmauss ve Yaksh 1984).

Testler aynı kişi tarafından, aynı giysilerle, günün aynı saatinde, aynı oda sıcaklığı ve aydınlatmada yapıldı.



Resim.3.3. Hot Plate ve Kuyruk Batırma Testi Uygulaması.

3.4. Deneyin Sonlandırılması

Sıçanlara %10'luk ketamin ve %2'lik ksilazin anestezisi intramuskuler uygulandı ve deney sonlandırıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Araştırma verisi "SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)" aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklendi ve değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma olarak sunuldu. İki bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Student's t testi, iki bağımlı grup arasında eşleştirilmiş örneklem t testi (paired sample ttest), üçten daha fazla bağımsız grup arasında tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) istatistiksel yöntem olarak kullanıldı. Fark saptandığında farkın kaynağını saptamaya yönelik post-hoc Tukey HSD/Tamhane T2 testleri kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma grupları arasında 1-7. haftalarda ölçülen ağırlık değerlerinin dağılımı Tablo 4.1’de sunuldu (Tablo 4.1).

Grup-1’e bakıldığında ağırlık değerlerinin başlangıç değerine göre artış eğilimi, Grup-2, 3, 4 ve 5’in ise azalış eğilimi gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.1). İlk ölçüm olan 1.haftaya göre karşılaştırıldığında ise; 4., 5., 6. ve 7. haftalardaki ağırlık değerlerinin anlamlı olarak artış gösterdiği saptandı ($p<0.05$). Diğer taraftan 2. ve 3.haftalardaki ağırlık değerleri, 1.haftaya göre anlamlı bir değişiklik göstermedi ($p>0.05$) (Tablo 4.1; Şekil 4.2).

Grup-2, 3, 4 ve 5 değerlendirildiğinde; 1.hafta ağırlık ölçüm değerine göre 2., 3. ve 4. haftalardaki ağırlık değerlerinin anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p<0.05$) (Tablo 4.2).

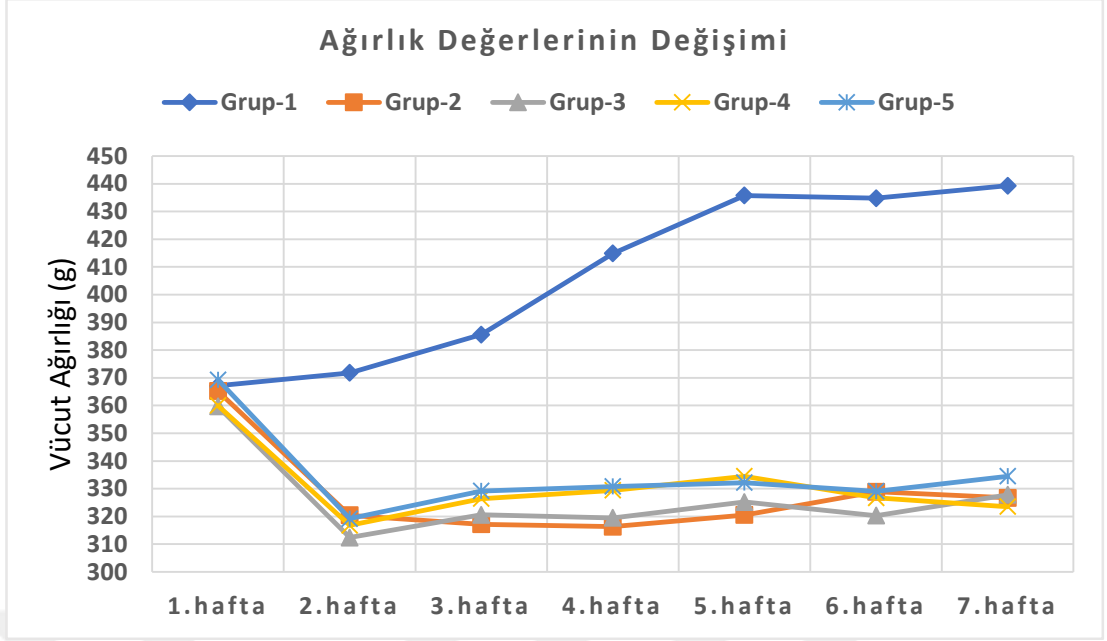
Tablo 4.1. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Ağırlık Değerlerinin Dağılımı.

	Ağırlık (g)						
	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta
Grup-1 (n=8)	367,1±28,8	371,8±19,0	385,6±20,9	414,9±23,4*	435,8±27,2*	434,8±28,2*	439,3±26,9*
Grup-2 (n=8)	365,2±38,0	320,4±33,7*	317,2±20,1*	316,3±31,9*	320,5±49,9	328,9±43,4	326,7±27,2
Grup-3 (n=10)	359,7±34,1	312,4±44,1*	320,6±34,6*	319,5±31,5*	325,2±33,3	320,3±36,6	327,8±30,8
Grup-4 (n=10)	360,0±17,4	316,8±23,5*	326,4±38,8*	329,4±39,6*	334,5±30,2	326,7±29,7*	323,5±47,2*
Grup-5 (n=10)	369,3±20,3	319,2±32,3*	329,2±43,5*	330,8±35,7*	332,2±36,7*	329,1±36,8*	334,5±44,9

*1.haftaya göre anlamlı fark saptandı ($p<0.05$); Değişkenler “ortalama±standart sapma” olarak sunulmuştur.

Çalışma grupları arasında 1.haftadaki ağırlık ölçümü açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0.880$).

Çalışma grupları içerisindeki DM grubu olarak kabul edilen (Grup-2, 3, 4 ve 5) 38 sıçanın 1 haftada ölçülen ağırlık değeri ortalaması 363,5±27,3 g iken 4.haftadaki ağırlık değeri ortalaması 324,4±31,1 g olup, ağırlık değerindeki %10,7’lik azalma istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p<0.001$).



Şekil 4.1. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Ağırlık Değerlerinin Değişimi.

Çalışma gruplarının kendi içinde farklı zamanlardaki glukoz değerlerinin değişimi Tablo 4.2’de sunulmuştur.

Kontrol grubu olarak kabul edilen Grup-1’in ölçüm yapılan haftalar arasındaki glukoz değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

Kontrol grubu ile DM grubu sıçanlar arasında kan glukoz değerleri açısından anlamlı fark bulundu. DM grubu kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$).

DM grupları olarak kabul edilen Grup-2, 3, 4 ve 5’in ayrı ayrı kendi içinde haftalar arasındaki glukoz değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.2).

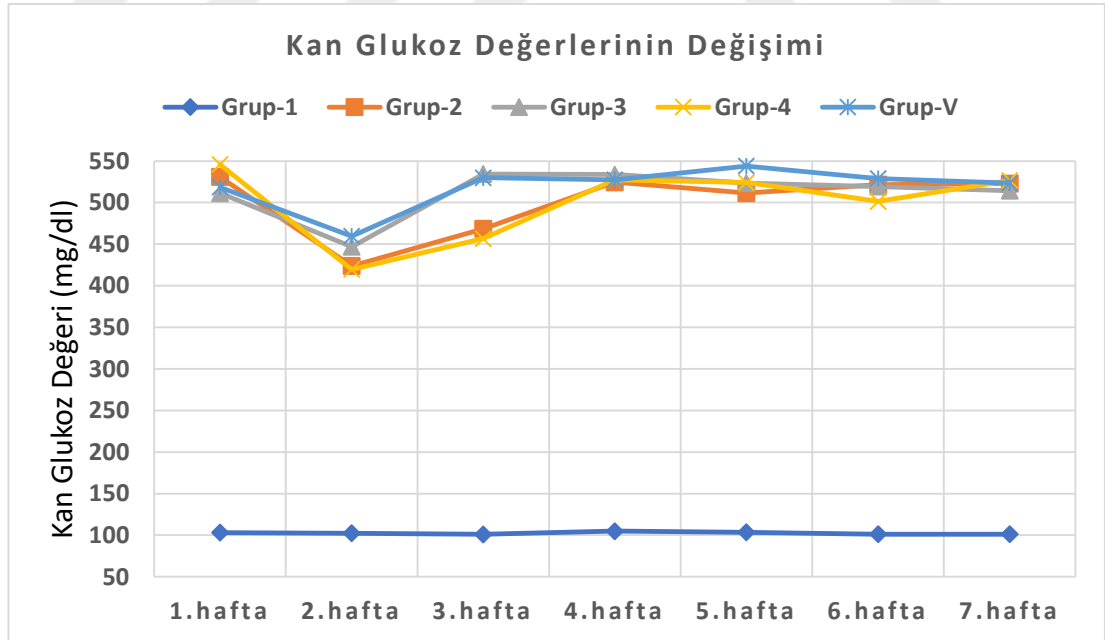
Buna ek olarak DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında 1., 2., 3., 4., 5., 6. ve 7. haftalarda ölçülen glukoz değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 4.2. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Glukoz Değerlerinin Dağılımı.

	Glukoz (mg/dl)						
	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta
Grup-1 (n=8)	103,1±12,9	102,4±7,9	101,1±4,6	104,9±8,7	103,5±2,6	101,2±4,5	101,2±6,6
Grup-2 (n=8)	530,9±131,1	423,9±131,7	468,4±122,9	524,6±121,1	511,5±132,9	521,7±108,3	522,9±110,7
Grup-3 (n=10)	511,5±112,3	447,0±84,5	534,4±62,0	533,8±86,6	523,5±76,7	519,4±82,3	514,4±86,3
Grup-4 (n=10)	545,9±93,6	419,7±74,6	456,8±99,9	527,2±100,3	524,2±92,8	501,5±90,6	526,6±82,0
Grup-5 (n=10)	518,5±100,9	459,7±72,9	529,9±92,4	527,3±87,9	544,0±98,7	529,0±92,2	523,5±92,2

Değişkenler “ortalama±standart sapma” olarak sunulmuştur.

Çalışma gruplarında kan glukoz düzeyleri değerlendirildiğinde, Grup-1’in kan glukoz değerlerinde başlangıç değerine göre değişim olmadığı, Grup-2, 3, 4 ve 5’in kan glukoz değerlerinin ise 400-550 mg/dl arasında değişiklik gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Çalışma Gruplarının Kendi İçinde 1-7. Haftalarda Ölçülen Glukoz Değerlerinin Değişimi.

DM grubu (n=38) sıçanların dördüncü haftada ölçülen hot plate süreleri 0.haftaya göre yaklaşık %22 azalmıştı ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlıydı

($p < 0.05$) (Tablo 4.3; Şekil 4.3). STZ uygulamasının 72. saatindeki hafta, 0.hafta olarak tanımlanmıştır.

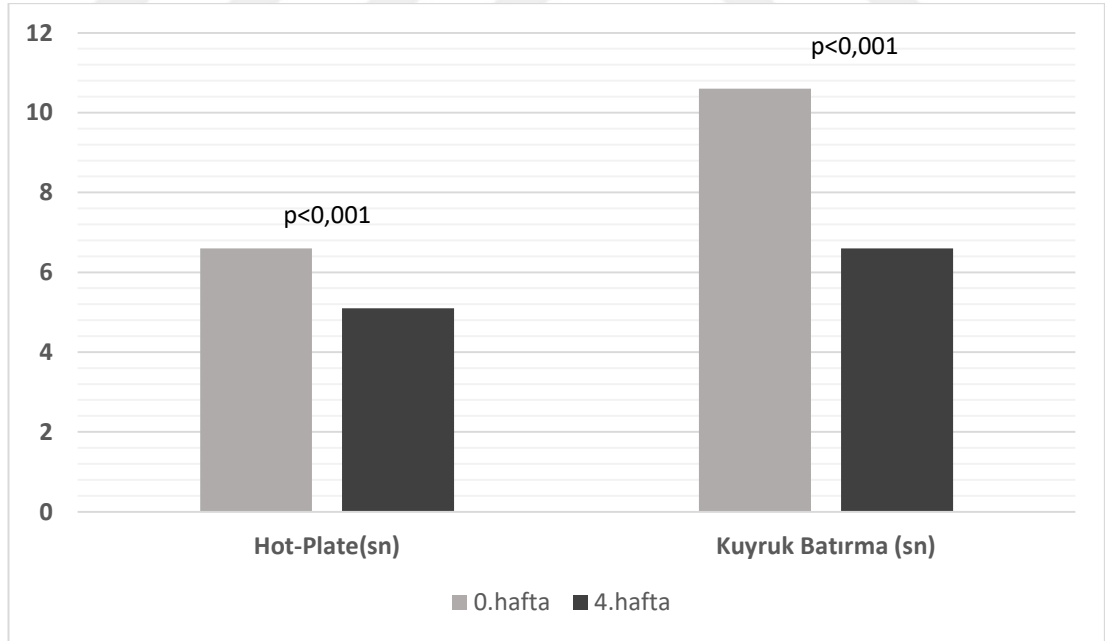
Tablo 4.3. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki Hot Plate Ölçümlerinin Dağılımı.

(n=38)	0.hafta	4.hafta	p
Hot Plate (sn)	6,6±1,7	5,1±1,3	<0,001

DM grubunda yer alan sıçanların dördüncü haftada ölçülen kuyruk batırma testi süreleri 0.haftaya göre yaklaşık %37 azalmıştı ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.05$) (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

Tablo 4.4. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki Kuyruk Batırma Ölçümlerinin Dağılımı.

(n=38)	0.hafta	4.hafta	p
Kuyruk Batırma (sn)	10,6±8,8	6,6±2,8	<0,001

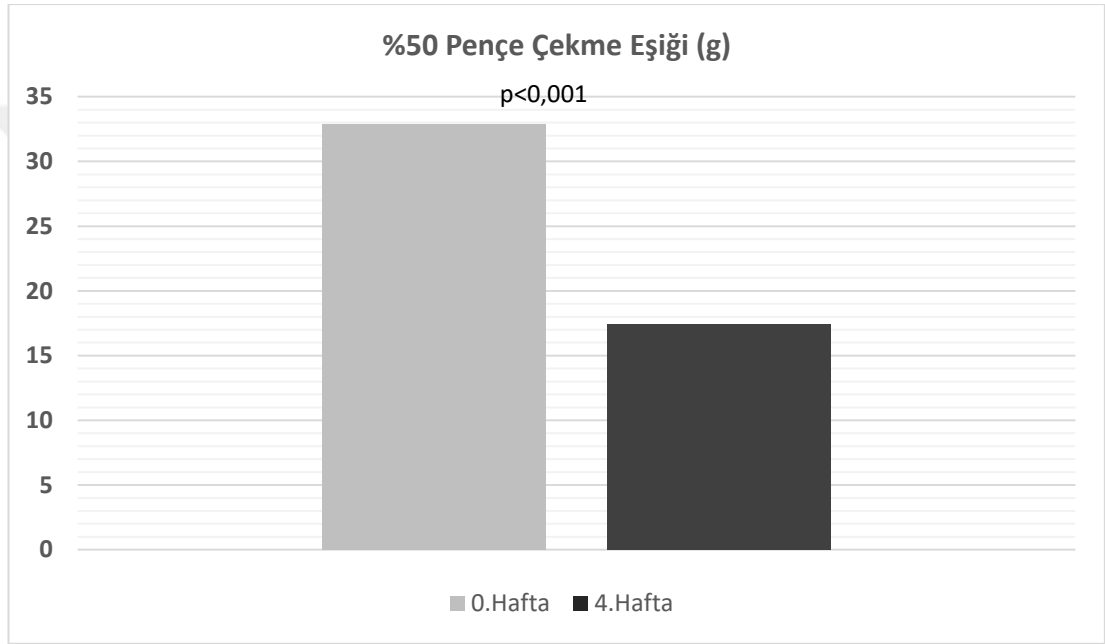


Şekil 4.3. DM Grubunda 0. ve 4. Haftalardaki Hot Plate ve Kuyruk Batırma Test Değerlerinin Değişimi.

DM grubu (n=38) sıçanların dördüncü haftada ölçülen %50 pençe çekme eşiği, 0.haftaya göre yaklaşık %47 azalmıştı ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo 4.5; Şekil 4.4).

Tablo 4.5. DM Grubunda (Grup-2,3,4,5) 0.Hafta ile 4.Hafta Arasındaki %50 Pençe Çekme Eşiği Değerlerinin Dağılımı.

(n=38)	0.hafta	4.hafta	p
%50 Pençe Çekme Eşiği (g)	32,9±20,1	17,4±8,0	<0,001



Şekil 4.4. DM Grubunda 0. ve 4. Haftalardaki %50 Pençe Çekme Eşiğinin Değişimi.

Kontrol grubu ile DM grubu arasında 0.haftada ölçülen hot plate süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı.

	n	0.hafta Hot Plate Süresi (sn)	p
Kontrol	8	6,6±1,26	0,924
DM	38	6,6±1,73	

DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında 4.haftada ölçülen hot plate süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.7; Şekil 4.5; Şekil 4.6).

Tablo 4.7. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı.

	n	4.hafta	
		Hot Plate Süresi (sn)	p
Grup-2	8	4,9±1,1	0,097
Grup-3	10	5,3±1,6	
Grup-4	10	4,3±1,0	
Grup-5	10	5,7±1,0	

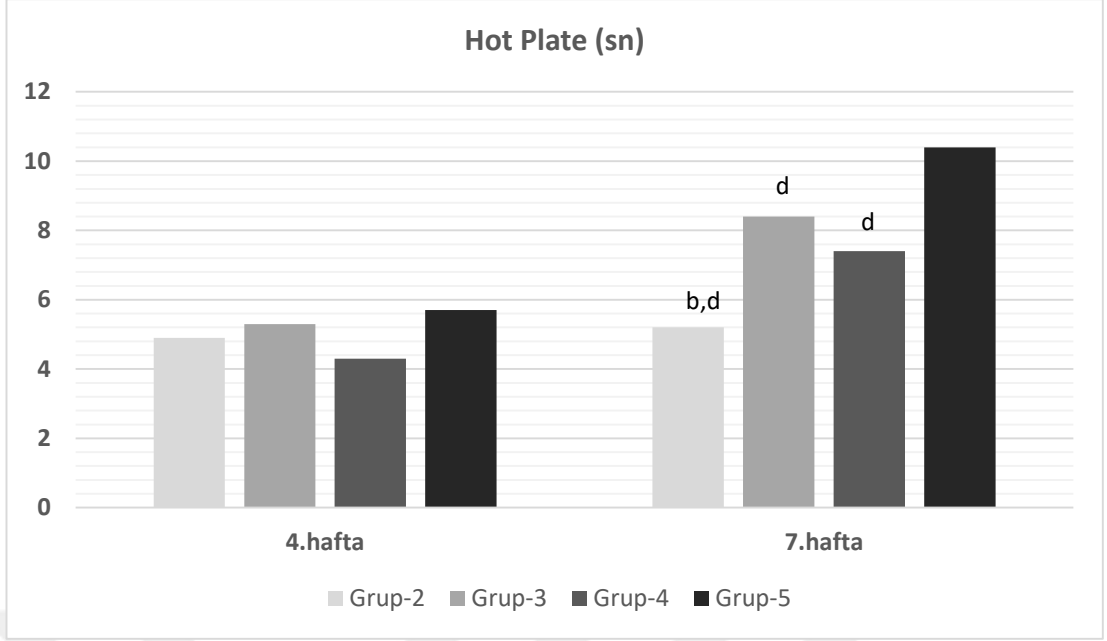
DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında yedinci haftada ölçülen hot plate süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkların Grup-2 ile Grup-3 ve Grup-5 arasında, Grup-3 ile Grup-5 arasında ve Grup-4 ile Grup-5 arasında olduğu görüldü. Grup-2’de yer alan sıçanların yedinci haftadaki hot plate süreleri, Grup-3 ve Grup-5’ten anlamlı olarak düşük iken, Grup-3’te ve Grup-4’te yer alan sıçanların yedinci haftadaki hot plate değerleri Grup-5’ten anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.8; Şekil 4.5; Şekil 4.6).

Tablo 4.8. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı.

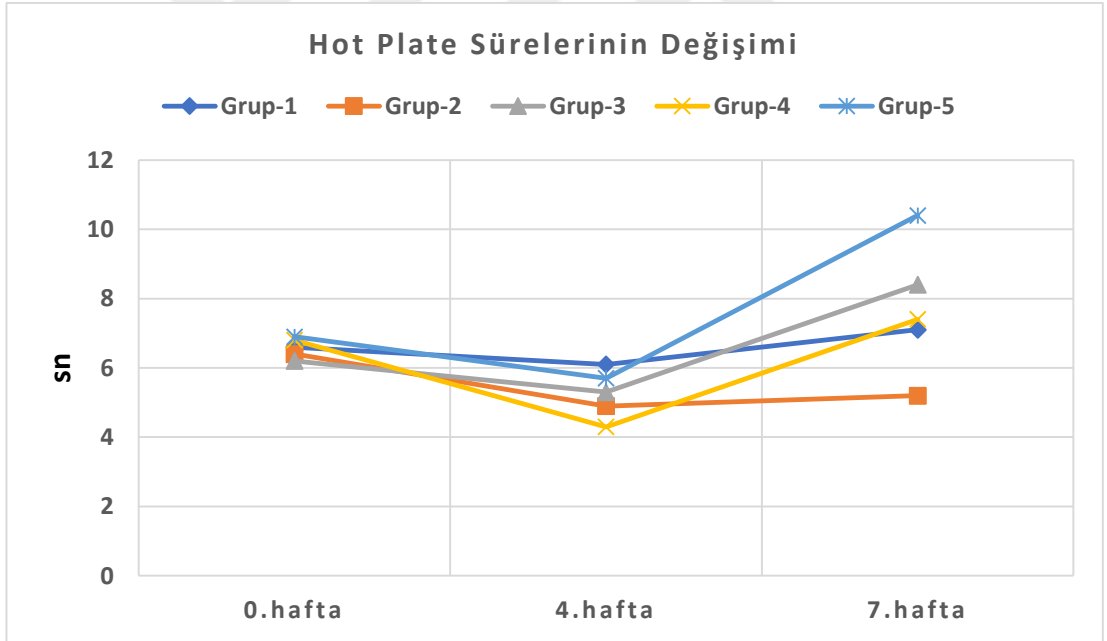
	n	7.hafta	
		Hot Plate Süresi (sn)	p
Grup-2	8	5,2±1,3 ^{bd}	<0,001
Grup-3	10	8,4±1,2 ^d	
Grup-4	10	7,4±2,2 ^d	
Grup-5	10	10,4±1,6	

^bPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-3” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).

^dPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-5” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.5. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Hot Plate Sürelerinin Dağılımı; ^b“Grup-3” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$); ^d“Grup-5” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.6. Grup-1, 2, 3, 4 ve 5 Arasında 0., 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Hot Plate Değerlerinin Değişimi.

Kontrol grubu ile DM grubu arasında 0.haftada ölçülen kuyruk batırma testi süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı.

	n	0.hafta Kuyruk Batırma Süresi (sn)	p
Kontrol	8	10,1±3,3	0,694
DM	38	10,6±2,8	

DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında 4.haftada ölçülen kuyruk batırma testi süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.10; Şekil 4.7; Şekil 4.8).

Tablo 4.10. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı.

	n	4.hafta Kuyruk Batırma Süresi (sn)	p
Grup-2	8	6,7±4,6	0,999
Grup-3	10	6,6±2,1	
Grup-4	10	6,5±2,3	
Grup-5	10	6,7±2,7	

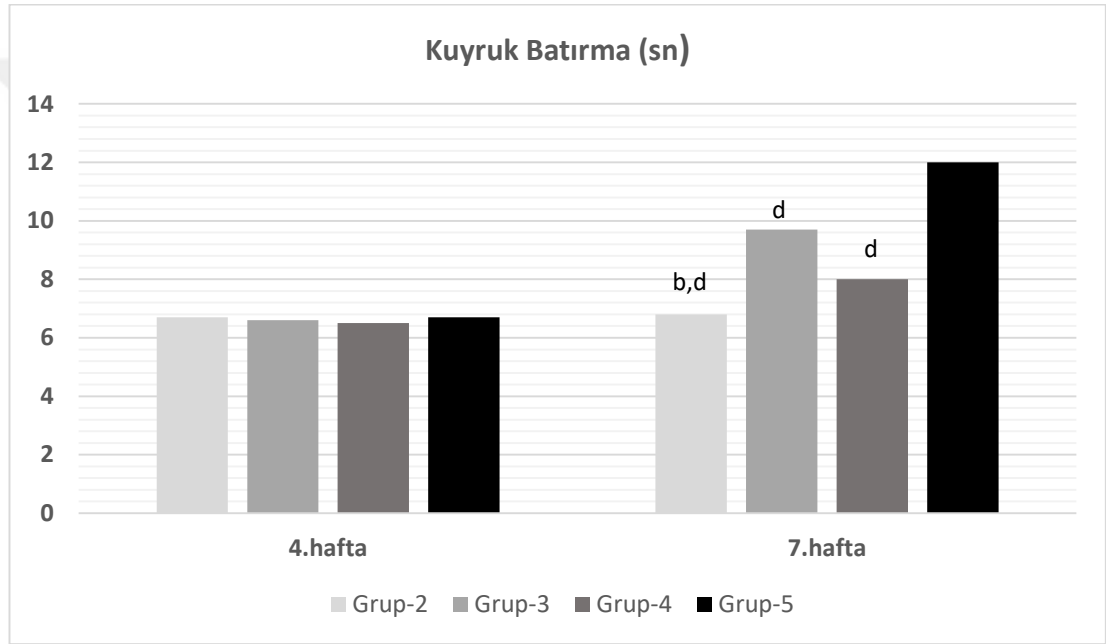
DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında yedinci haftada ölçülen kuyruk batırma testi süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkların Grup-2 ile Grup-3 ve Grup-5 arasında, Grup-3 ile Grup-5 arasında ve Grup-4 ile Grup-5 arasında olduğu görüldü. Grup-2’de yer alan sıçanların yedinci haftadaki kuyruk batırma testi süreleri, Grup-3 ve Grup-5’ten anlamlı olarak düşük iken, Grup-3’te ve Grup-4’te yer alan sıçanların yedinci haftadaki kuyruk batırma süreleri Grup-5’ten anlamlı olarak düşüktü (Tablo 4.11; Şekil 4.7; Şekil 4.8).

Tablo 4.11. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı.

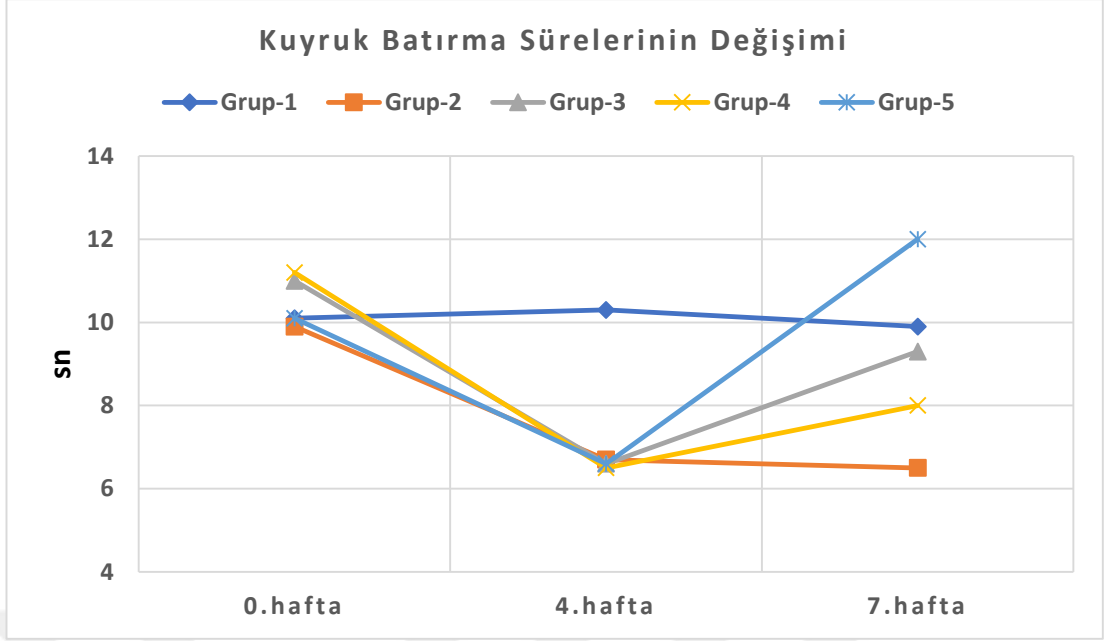
	n	7.hafta Kuyruk Batırma Süresi (sn)	p
Grup-2	8	6,5±0,9 ^{bd}	<0,001
Grup-3	10	9,3±2,9 ^d	
Grup-4	10	8,0±1,1 ^d	
Grup-5	10	12,0±2,4	

^bPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-3” ile anlamlı fark saptandı (p<0,05).

^dPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-5” ile anlamlı fark saptandı (p<0,05).



Şekil 4.7. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Kuyruk Batırma Sürelerinin Dağılımı; ^b“Grup-3” ile anlamlı fark saptandı (p<0,05); ^d“Grup-5” ile anlamlı fark saptandı (p<0,05).



Şekil 4.8. Grup-1,2, 3, 4 ve 5 Arasında 0.,4. ve 7. Haftalarda Ölçülen Kuyruk Batırma Testi Değerlerinin Değişimi

Kontrol grubu ile DM grubu arasında 0.haftada ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.12 Şekil 4.9; Şekil 4.10).

Tablo 4.12. Kontrol ve DM Grupları Arasında 0.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiği Değerlerinin Dağılımı.

	n	0.Hafta	p
		%50 Pençe Çekme Eşiği (g)	
Kontrol	8	30,9±19,4	0,802
DM	38	32,9±20,1	

Kontrol grubundan izole olarak; DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında 4.haftada ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.13; Şekil 4.9; Şekil 4.10).

Tablo 4.13. DM Grupları Arasında 4.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı.

	n	4.Hafta %50 Pençe Çekme Eşiği (g)	p
Grup-2	8	16,5±7,0	
Grup-3	10	17,4±8,9	
Grup-4	10	19,1±9,1	0,879
Grup-5	10	16,4±7,4	

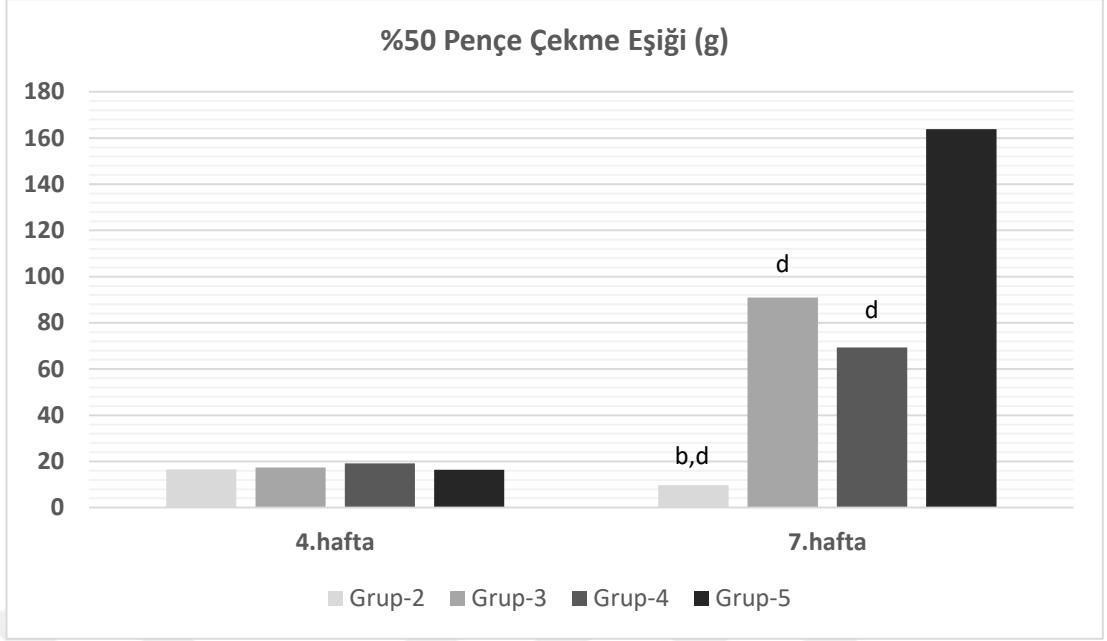
DM grupları olan Grup-2, 3, 4 ve 5 arasında yedinci haftada ölçülen %50 pençe çekme eşiği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$). Yapılan post-hoc ikili karşılaştırmalar sonucu anlamlı farkların Grup-2 ile Grup-3 ve Grup-5 arasında, Grup-3 ile Grup-5 arasında ve Grup-4 ile Grup-5 arasında olduğu görüldü. Grup-2’de yer alan sıçanların yedinci haftadaki %50 pençe çekme eşiği Grup-3 ve Grup-5’ten anlamlı olarak düşük iken Grup 3’te ve Grup-4’te yer alan sıçanların yedinci haftadaki %50 pençe çekme eşiği Grup-5’ten anlamlı olarak düşüktü ($p<0.05$) (Tablo 4.14; Şekil 4.9; Şekil 4.10).

Tablo 4.14. DM Grupları Arasında 7.Haftada Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı.

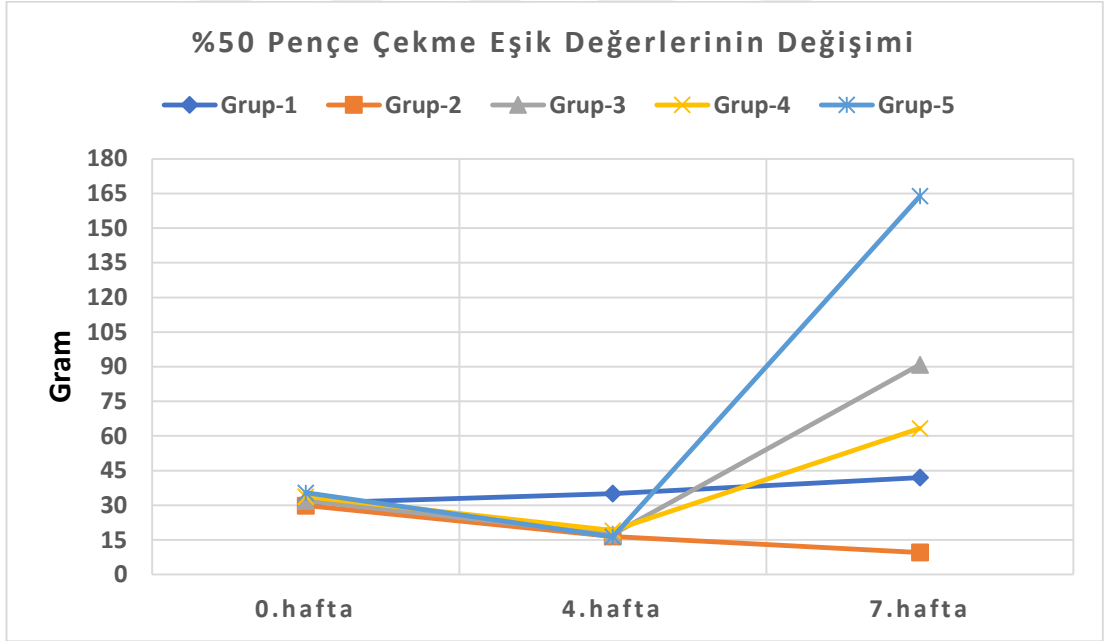
	n	7.Hafta %50 Pençe Çekme Eşiği (g)	p
Grup-2	8	9,7±1,2 ^{bd}	
Grup-3	10	91,0±45,8 ^d	
Grup-4	10	69,4±40,0 ^d	
Grup-5	10	163,8±92,3	<0,001

^bPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-3” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).

^dPost-hoc ikili karşılaştırmada “Grup-5” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.9. Grup-2, 3, 4 ve 5 Arasında 4. ve 7. Haftalarda Ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Dağılımı; ^b“Grup-3” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$); ^d“Grup-5” ile anlamlı fark saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.10. Grup-1, 2, 3, 4 ve 5 Arasında 0., 4. ve 7. Haftalarda ölçülen %50 Pençe Çekme Eşiğinin Değişimi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, STZ modeli ile diyabetik nöropatik ağrı oluşturulmuş sıçanlarda donepezil'in analjezik etkisi ve NO yolağının bu etkideki olası rolü araştırıldı.

Araştırma donepezil'in, termal uyaran ile oluşturulan hiperaljeziyi ve mekanik uyaran ile oluşturulan allodiniyi azalttığını ve başarılı biçimde tedavi ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca ilacın antihiperalezik ve antiallodinik etkisine NO yolağının katkısı olduğu söylenebilir. Bildiğimiz kadarıyla donepezil'in antihiperalezik ve antiallodinik etkisine NO yolağının katkısı, ilk kez bu tez çalışması ile gösterilmiştir.

Tek doz STZ uygulaması, sıçanlarda çok iyi belgelenmiş ve kabul edilen bir diyabet modelidir (Leung ve ark. 2010; Sokolovska ve ark. 2010). Farelerde ve sıçanlarda STZ kaynaklı diyabette mekanik allodini ve termal hiper/hipoaljezi daha önce çok kez bildirilmiştir (Gong ve ark. 2011; Oghbaei ve ark. 2019). Deneysel diyabetik nöropati çalışmalarında tek doz STZ uygulaması, erken dönemde allodini ve hiperalezi semptomları göstermesi nedeniyle en çok başvurulan yöntemdir (Yamamoto ve ark. 2009).

Analjezi için kolinerjik ilaçların kullanılması fikri on yıllar öncesine dayanmaktadır (Hartvig ve ark. 1989). Daha önceki çalışmalarda, kolinerjik inhibitörlerinin, spinal sinir ligasyonu (SNL) ile oluşturulan nöropatik ağrı modellerinde von Frey filamentleri ile değerlendirilen mekanik allodiniyi azalttığı ve analjezik etkinlik oluşturduğu gösterilmiştir (Hwang ve ark. 1999; Lavand'homme ve ark. 1999; Pöyhiä ve ark. 1999).

Kronik ağrının uzun süreli tedavisi için oral olarak verilen kolinerjik ilaçların klinik kullanımı, özellikle gastrointestinal sistemde, kolinerjik kaynaklı yan etkilerin yüksek olması nedeniyle şimdiye kadar sınırlandırılmıştı. Bu durumun aksine, donepezil, eski kolinerjik inhibitörlerine göre daha iyi tolere edilebilirlik ve güvenlik profili gösteren ikinci kuşak bir AChEI'dir (Caldwell 2009; Jackson ve ark. 2004).

Çalışmada diyabetik sıçanların vücut ağırlıkları, deney başlangıcına ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Kilo kaybı başlangıca göre ikinci hafta en yüksek seviyede iken, ikinci haftadan sonra deney sonuna kadar bu kilo kaybı oranı azalmıştır. DN'nin geliştiği dördüncü haftaya göre değerlendirildiğinde, DM grubundaki sıçanların kilo kaybı %10,7 oranında bulunmuştur. Bu gözlemler, STZ ile

indüklenen diyabetik sıçanlarda vücut ağırlığının azaldığını gösteren önceki çalışmalarla uyumludur (Hasanein ve Shahidi 2010; Bhutada ve ark. 2011; Jaiswal ve ark. 2018; Oghbaei ve ark. 2020). Elbe ve ark (2015), kilo azalmasının genellikle hiperglisemi nedeni ile kan glukozunun enerji kaynağı olarak kullanılamaması ve doku proteinlerinin aşırı yıkımına bağlı olarak gerçekleştiğini belirtmişler hatta bulgularımızı destekler şekilde, sıçanlardaki kilo kaybının diyabetin ilerleyen sürecinde yavaşladığını da bildirmişlerdir. Kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlıkları başlangıca göre dördüncü haftadan itibaren deney sonuna kadar anlamlı olarak artmıştır. Çalışmamızda ayrıca, diyabetik sıçanlarda yüksek kan glukoz değerleri ile kilo kaybının yanında, huzursuzluk, polidipsi ve poliüri gibi DM bulguları da gözlemlenmiştir.

Çalışmada sıçanlarda STZ enjeksiyonunun üçüncü gününde DM olduğu saptanmıştır. DM grubundaki tüm sıçanların kan glukoz değerleri, literatürden yararlanarak belirlediğimiz 250 mg/dl değerinin üzerinde bulundu. Haftalık kan glukoz değerlerinin, diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. Çalışma boyunca DM grubunda kan glukoz değerlerinin ortalaması 400 mg/dl üzerinde seyretti. Bu bulgular literatürdeki diğer çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Rocha ve ark. 2017; Kiasalari ve ark. 2019; Oghbaei ve ark. 2020). Bu bulgularla DM’de görülen ve DN oluşumu ve semptomlarının görülmesinin ana nedenlerinden biri olan hipergliseminin deney boyunca gerçekleştiği söylenebilir. Ayrıca çalışmada donepezil, L-arjinin ve L-NAME’nin kan glukoz değerleri üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir.

Mevcut kanıtlar, diyabete bağlı kronik hiperglisemi, mikrovasküler yetmezlik ve inflamasyonun PDN gelişiminde birincil faktörler olduğunu göstermektedir. Kronik hiperglisemi, sinir sistemindeki homeostazi bozar, metabolik stresi artırır ve vasküler sistemin işlevini etkileyen çeşitli yan ürünler üretir. En dikkate değer örnek, gelişmiş glikasyon son ürünleridir (Vinik 1999). Kronik hipergliseminin, poliol, heksozamin ve AGE/RAGE gibi önemli metabolik yolların aktivasyonu ile periferik sinir harabiyetine neden olduğu bilinmektedir (Yagishashi ve Mizukami 2018).

Klinik olarak, PDN’nin neden olduğu ağrı, mekanik allodini, termal hiperaljezi ve spontan ağrı dahil olmak üzere çeşitli semptomlarla kendini gösterir (Vinik 1999; Calcutt ve Backonja 2007). Bununla birlikte, klinik bulgular DN’li hastalar arasında farklı olabilir. Örneğin, termal hiperaljezi her zaman mevcut olmayabilir ve mekanik

allodiniden bağımsız olarak da gelişebilir (Khan ve ark. 2002; Albers ve ark. 2014). Bazı çalışmalarda, mekanik allodinin sürekli mevcut olduğu da belirtilmiştir (Matsunaga ve ark. 2007; Callaghan ve ark. 2012; Chen ve ark. 2013). STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda termal ağrının ikinci ve dördüncü haftada hiperaljezik olmasının beklendiği bildirilmektedir (Ibironke 2004; Pabbidi 2008). Deneysel modellerle oluşturulan ve farklı davranışsal testlerle değerlendirilebilen termal hiperaljezi ve mekanik allodini, insanlardaki DN semptomlarını yansıtmaktadır (Barrot 2012).

Sıçanlarda termal ve mekanik nosiseptif eşiklerin hassas, tekrarlanabilir ve hızlı bir şekilde belirlenmesine olanak sağlayan hot plate, kuyruk batırma ve von Frey filament testi gibi bazı davranış testleri vardır (Barrot 2012). Çalışmada termal hiperaljeziyi değerlendirmek için hot plate ile kuyruk batırma testi ve mekanik allodiniyi değerlendirmek için de von Frey filamentleri testi uygulandı. Termal hiperaljezi, hem spinal (kuyruk batırma) hem de supraspinal (hot plate) düzeyde değerlendirildi. Nitekim ağrı eşiği yanıtları, diyabetik nöropatik ağrı hakkında dolaylı bilgi elde edilmesine katkı sağlamaktadır. Çalışmada termal hiperaljezi ve mekanik allodini testlerini sırasıyla, STZ uygulandıktan 72. saat, dört hafta ve yedi hafta sonra uyguladık. DM oluşumunun dördüncü haftasında DN geliştiği saptandı. Şöyle ki, STZ uygulamasından dört hafta sonra yapılan deneylerde, diyabetik termal hiperaljezinin değerlendirildiği hot plate ile kuyruk batırma testlerinin reaksiyon süreleri ve mekanik allodinin değerlendirildiği von Frey testi sonucu elde edilen %50 pençe çekme eşiği değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. Bu bulgular kapsamında, diyabetik sıçan gruplarında nöropatinin belirleyici semptomlarından olan hiperaljezi ve allodininin, hipergliseminin etkisiyle geliştiği söylenebilir. Nitekim bu bulgular diğer çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Akbar ve ark. 2016; Kandimalla ve ark. 2017; Abo-Salem ve ark. 2020; Ur Rehman ve ark. 2020). Literatürde deneysel modellerde hiperaljezi ve allodinin daha kısa sürede geliştiği ile ilgili veriler de bulunmaktadır (Khan ve ark. 2002; Moriarty ve ark. 2016; Gao ve ark. 2017).

Çalışmada, DM grupları arasında dördüncü hafta hot plate, kuyruk batırma ve von Frey testlerinin değerleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sürede sıçanların vücut ağırlıkları ve kan glukoz değerleri arasında da anlamlı fark

gözlenmedi. Bu durum DN gelişmiş sıçanların ilaç uygulanmadan önceki dönemde gruplara homojen olarak dağıldığı şeklinde yorumlanabilir.

Chen ve ark. (2013), DPN'yi tipik olarak hiperaljezi, parestezi ve allodini ile karakterize ağrı, yanma, bıçaklanma veya karıncalanma hissi olarak tanımlanan distal simetrik sensorimotor polinöropati şeklinde tanımlamışlardır. Çalışmada, 20 günlük tedaviden sonra sadece donepezil verilen DN'li sıçanların hot plate ve kuyruk batırma reaksiyon süreleri DM grubuna göre anlamlı olarak uzamış ve aynı şekilde donepezil verilen DN'li sıçanların %50 pençe çekme eşiği değerleri de anlamlı olarak artmıştır. Bu bulgular ışığında, donepezil'in termal hiperljezi ve mekanik allodini ile kanıtlanan diyabetik nöropatik ağrıda antihiperljezik ve antiallodinik etkiler oluşturduğundan bahsedilebilir. Kuyruk batırma testindeki yanıtlar spinal, hot plate testindeki yanıtlar supraspinaldır (Morales ve ark. 2001). Dolayısıyla donepezil'in analjezik etkisine hem periferik hem merkezi mekanizmaların dahil olduğu söylenebilir.

Bizim bulgularımızla benzer şekilde, PDN'de donepezil'in analjezik ve nöroprotektif etkilerini gösteren henüz çok az sayıda çalışma vardır. Atef ve ark. (2019), STZ ile indüklenen diyabetik nöropatik ağrı modelinde yaptıkları çalışmada donepezil'in, nöropatik ağrıyı ve mekanik duyarlılığı azalttığı kaydedilmiştir. Donepezil'in farklı nöropati modellerinde etkisinin araştırıldığı çalışmalardan birinde, oksaliplatin ile indüklenen periferik nöropati modelinde, semptomatik (mekanik allodini) ve morfolojik (siyatik sinir dejenerasyonu) değişiklikleri iyileştirdiği ayrıca tekrarlanan donepezil uygulamasının, oksaliplatinin antikanser etkinliğini bozmadan periferik nöropatiyi azalttığı gösterilmiştir (Kawashiri ve ark. 2019). Donepezil, çeşitli kemoterapötiklerle indüklenen nöropatik ağrı hayvan modellerinde de analjezik etkiler göstermiştir (Ferrier ve ark. 2015). Bu durumdan farklı olarak donepezil, bortezomib veya paklitaksel ile indüklenen nöropatik modelde soğuğa aşırı duyarlılık üzerinde ise etkili bulunmamıştır (Selvy ve ark. 2019).

Folkesson ve ark. (2010), ayrılan sinir hasarı (The spared nerve injury, SNI) modeliyle oluşturulan nöropatik ağrı modelinde gerçekleştirdikleri ve pençe geri çekme eşiğinin von Frey filamentleri kullanılarak belirlendiği çalışmada, donepezil'in analjezik etki gösterdiğini raporlamışlardır. Bir başka çalışmada, SNI ile oluşturulan sıçan nöropatik ağrı modelinde donepezil, hem ipsilateral hem de kontralateral mekanik duyarlılığı azaltmıştır (Clayton ve ark. 2007). Hayashida ve ark. (2007), sıçanlarda SNI ile oluşturulan nöropatik ağrı modelinde gabapentin ve donepezil

kombinasyonunun, spinal muskarinik reseptör aktivasyonunun aracılık ettiği sinerjik analjezik etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Farelerde aralıklı soğuk stresi ile indüklenen deneysel fibromiyalji benzeri kronik ağrı modeli kullanılan bir çalışmada ise, donepezil'in fibromiyalji benzeri ağrıyı supraspinal mekanizmalar üzerinden inhibe ederken, spinal mekanizmalar üzerinden de nöropatik ağrıyı bloke ettiği gösterilmiştir (Mukae ve ark. 2015). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada, periferik sinir hasarından sonra, donepezil'in spinal muskarinik reseptör aktivasyonu ile analjezik etki gösterdiği ve etkinliğinin, beyin ve omurilikte muskarinik reseptör-aracılı G-proteinlerinin desensitizasyonuna yol açmadan iki hafta boyunca korunduğu bildirilmiştir (Clayton ve ark. 2007). Jaiswal ve ark. (2018), tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise, donepezil'in nörodejeneratif hastalıkta diyabetik komplikasyonları önlemede de etkili olduğu gösterilmiştir.

Klinik çalışmalar da donepezil'in analjezik ve nöroprotektif etkisi olduğunu desteklemektedir. Donepezil'in kanser hastalarında opioid kaynaklı sedasyonu azaltmak için kullanımı, kronik ağrı için analjezik etkili olabileceğini düşündürmektedir (Slatkin ve Rhiner 2003). Boyle ve ark. (2014), sağlıklı gönüllülerde gabapentin-donepezil kombinasyonunun, tek başına gabapentin'e kıyasla sural sinir stimülasyonuna verilen ağrılı cevabı, ciddi bir yan etki göstermeden, iyileştirdiğini göstermişlerdir. Yapılan başka bir klinik çalışmada ise, sadece gabapentin verilen gruba göre, donepezil-gabapentin verilen grupta, donepezil'in iyi tolere edildiği ve klinik olarak nöropatik ağrının anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiştir (Basnet ve ark. 2013). Benzer bulgular Kogure ve ark. (2017) tarafından da bildirilmiştir. Bir olgu sunumu diz ağrısı olan Alzheimer hastasında donepezil'in analjezik etkisini göstermiştir (Gharaei ve Shadlou 2014). Klinik çalışmalar donepezil'in muhtemel antinöropatik etkisini doğrulamıştır (Kerckhove ve ark. 2022).

Nitrik oksit, NOS tarafından arjinin ve oksijenden üretilir. NOS, sırasıyla nöronal, indüklenabilir ve endotelial nitrik oksit sentaz (nNOS, iNOS ve eNOS) tarafından kodlanan NOS1, NOS2 ve NOS3'ü içerir. nNOS nöronlarda, eNOS vasküler endotel hücrelerinde bulunur ve iNOS, oligodendrosit, astrosit ve mikroglyal hücrelerde aktive edilir. Hem nNOS hem de eNOS yapısal olarak ifade edilir ve aktivasyonları kalsiyum iyonu/kalmodulin'e bağlıdır. iNOS ekspresyonu, yabancı cisimlere ve doku hasarına yanıt veren astrositlerde, mikroglyal hücrelerde ve kandan

türetilen makrofajlarda indüklenir (Tang ve ark. 2019). L-NAME, seçici olmayan bir NOS inhibitörüdür (Dambisya 1995).

Nitrik oksit, başlıca proinflamatuvar mediatörlerden biridir ve nöroinflamatuvar hastalıklarda önemli bir rol oynar (Reale ve ark. 2006). Çoğu durumda NO'nun iki farklı fonksiyonu vardır. Fizyolojik düzeyde NO, nöroprotektif etkileri olan bir moleküldür, fazla miktarda üretildiğinde ise nörotoksik etkiye sahiptir (Venturelli ve ark. 2018). NO, ağrının sinyal iletimi üzerinde modülatör bir etki yapar. NO konsantrasyonundaki artışın ardından, guanilil siklaz aktive olur ve cGMP'nin biyosentezi gerçekleşir. Bu hücre içi haberci sırayla cGMP'ye bağlı kinazların, cGMP kapılı iyon kanallarının ve cGMP tarafından düzenlenen fosfodiesterazların aktivitesini modüle eder (Miclescu ve Gordh 2009).

Çalışmada donepezil'in analjezik etkisinde NO'nun olası rolünü incelemek amacıyla DN oluşturulan sıçanlarda 20 günlük donepezil-L-NAME tedavisinden sonra sıçanların hot plate reaksiyon sürelerinin, DM, donepezil ve donepezil-L-arjinin verilen gruplara göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Donepezil-L-arjinin verilen grupta süre, donepezil grubuna kıyasla azalmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Aynı şekilde donepezil-L-NAME verilen DN'li sıçanların kuyruk batırma reaksiyon sürelerinin, DM, donepezil ve donepezil-L-arjinin verilen gruba göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Donepezil-L-arjinin verilen grupta tek başına donepezil verilen gruba kıyasla sürenin azaldığı gözlenmiş ancak istatistiksel fark bulunmamıştır.

Donepezil-L-NAME verilen DN'li sıçanların %50 pençe çekme eşiği tek başına DM, donepezil ve donepezil-L-arjinin verilen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Donepezil-L-arjinin verilen grupta ise eşik değer, donepezil grubundan düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde, termal hiperaljezi testlerinde de donepezil-L-arjinin grubunun eşik değerleri düşük bulunmakla birlikte donepezil grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Bu bulgular değerlendirildiğinde, antiallodinik ve antihiperaljezik etkinin en yüksek, donepezil-L-NAME grubunda olduğu görülmektedir. Bu grupta termal hiperaljezi testlerinde reaksiyon süreleri diğer gruplara göre anlamlı olarak artmıştır. Von Frey filamentleri ile değerlendirilen %50 pençe çekme eşiği de anlamlı olarak

artmıştır. Bu sonuçlar, L-NAME'in donepezil'in antiallodinik ve antihiperaljezik etkisini artırdığını göstermektedir. L-NAME'nin bir nonspesifik NOS inhibitörü olduğu düşünüldüğünde, donepezil'in antiallodinik ve antihiperaljezik etkisinde nitrik oksit yolağının katkısı olduğu söylenebilir.

Elde ettiğimiz bu veriler, NO'nun ağrı oluşumunda rolü bulunduğu görüşünü destekler nitelikte deneysel ve klinik çalışmaların sonuçları ile koreledir. Ayrıca donepezil ve L-NAME'nin sinerjistik etkisi, genel olarak NO sentez inhibisyonunun nöropatik ağrıyı hafiflettiği görüşünü desteklemektedir. Kapsamlı bir araştırma, aşırı NO üretiminin, periferik nöropatinin çoklu patolojilerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Huang ve ark. 2015). Donepezil-L-NAME kombinasyonunun analjezik etkiyi artırması, L-NAME ile NOS inhibisyonunun ağrının modülasyonunda yer alan NO'nun üretimini azalttığı şeklinde yorumlanabilir. Önceki çalışmalar, NO'nun hiperaljezinin gelişimine ve sürdürülmesine yol açtığını göstermiştir. Bu nedenle, NOS inhibitörleri diyabetik nöropatik ağrının tedavisinde rol oynayabilir.

Donepezil'in böbrek hasarı üzerindeki koruyucu etkisini ve bu etkinin mekanizmalarını araştırmak için, gliserol ile indüklenen akut böbrek yetmezliği (ABY) modeli kullanılarak sıçanlarda yapılan bir çalışmada, ABY grubunun böbreklerinde NO ve iNOS düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Donepezil tedavisinin, artan NO ve iNOS düzeylerini düzelttiği ve ABY'de olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu etki, donepezil'in sıçan böbrek dokularında iNOS aktivitesi üzerindeki inhibisyona bağlı olarak oksidatif hasarı ve inflamatuvar bozuklukları azaltması şeklinde açıklanmıştır (Sun ve ark. 2020). Bir başka çalışmada, donepezil'in sıçan mikrogial hücrelerinde TNF- α tarafından indüklenen NO üretimini baskıladığı gözlemlenmiştir (Haraguchi ve ark. 2017).

Çok sayıda kanıt, omuriliğin dorsal boynuzundaki ağrının işlenmesi sırasında nNOS'un ana NO kaynağı olduğunu göstermektedir. Temel koşullar altında nNOS, medulla spinalisin lamina I-III'deki bazı nöronlarda (toplam nöronların %5-18'i) yapısal olarak eksprese edilir (Gassner ve ark. 2013). Birçok hayvan çalışması, nNOS-immünoreaktif dorsal boynuz nöronlarının sayısının ve dorsal boynuzdaki optik nNOS yoğunluğunun, formalin, zymosan gibi proinflamatuvar ajanların arka pençeye enjekte edilmesiyle uyarılan inflamatuvar ağrı sırasında arttığını göstermiştir. Bu nedenle nNOS'un, omurilikte kalıcı inflamatuvar ve nöropatik ağrının işlenmesinde özel bir rolü olabilir (Schmidtke 2015).

Mete ve Aksu (2017)'nin sıçanlarda parsiyel sıkı ligasyon ile oluşturduğu nöropatik ağrı modelinde, bizim bulgularımızı destekler şekilde L-arjinin tramadol'un analjezik etkisini değiştirmemiş, L-NAME ise artırmıştır. Bu durumun NOS inhibisyonu ile NO üretiminin azaltılmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada, nöropatik ağrı grubuna uygulanan L-arjinin, antiallodinik etki oluşturmamıştır. Başka bir çalışmada, kuyruk çekme ve abdominal kıvranma testleri ile incelenen ağrı modelinde, L-NAME ve yine nonselektif bir NOS inhibitörü olan L-NMMA morfin'in antinosiseptif etkilerini artırmıştır (Dambisya 1995).

STZ ile indüklenen ve davranışsal ağrı testlerinin kullanıldığı diyabetik nöropati modelinde, L-NAME, akut uygulanan fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörü sildenafil'in etkisini antagonize etmiştir. Bunun nedeninin diyabetik durumda azalmış nNOS aktivitesinin bir sonucu olarak azalan NO ve cGMP üretimi olabileceği ifade edilmiştir (Patil ve ark. 2004). Akbarian ve ark. (2021), tarafından sıçanlarda STZ ile indüklenen DN nosisepsiyonun değerlendirildiği bir çalışmada, L-NAME'nin subefektif atorvastatin dozunun hem hot plate hem de tail-flick testlerinde anti-hiperaljezik etkiyi artırdığı ve bu etkinin NO aracılığı ile gerçekleştiği bildirilmiştir. NOS inhibitörlerinin intratekal uygulamasının farklı deney hayvanlarının inflamatuvar ve nöropatik ağrı modellerinde ağrı davranışını anlamlı bir şekilde iyileştirdiği gösterilmiştir (Meller ve Gebhart 1993; Luo ve Cizkova 2000). Daha seçici NOS inhibitörleriyle yapılan deneyler, nNOS'un nöropatik ağrının gelişimi ve sürdürülmesindeki rolüne ve iNOS'un inflamatuvar ağrının işlenmesindeki katkısına işaret etmiştir (Guan ve ark. 2007; Dableh ve Henry 2011).

Nitrik oksidin nosiseptif iletim üzerindeki etkisi ile ilgili olarak çelişkili veriler bulunmaktadır. Şöyle ki, NO'nun ağrıya neden olabileceği, inflamatuvar hiperaljeziyi yoğunlaştırabileceği ve nöropatik ağrıyı artırabileceği (Staunton ve ark. 2018), ancak aynı zamanda anti-nosisepsiyon üretebileceği de bildirilmiştir (Gomes ve ark. 2020; Kusuda ve ark. 2020). İnsanlarda doza bağlı NO etkileri de değerlendirilmiş olup, transdermal nitrogliserin bant uygulanması yoluyla NO uygulamasının, düşük NO dozlarında omuz veya dirsek yaralanmasına bağlı ağrıyı azalttığı bildirilmiştir (Paoloni ve ark. 2003). Bu durumun aksine, yüksek dozlarda transdermal nitrogliserin bant veya merhemi hiperaljeziyi indüklemiştir (Cadiou ve ark. 2007).

Yakın zamanda Raisian ve ark. (2022), SNI modeliyle oluşturulan nöropatik ağrı modelinde, medial prefrontal kortekse mikro injeksiyon ile L-arjinin ve L-NAME

uygulamışlar ve L-arjinin'in mekanik allodiniyi azalttığı, L-NAME'in ise anlamlı bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Bununla birlikte, L-NAME ön tedavisi, L-arjinin kaynaklı antiallodinik etkiyi inhibe etmiştir.

Literatürde görüldüğü üzere, L-arjinin ve L-NAME'nin tek başına analjezik etkisine yönelik farklı görüşler mevcuttur. Bu durum NO'nun hem pronosiseptif hem de antinosiseptif olmasından kaynaklanabilir. NO'nun seviyesi ve farklı NOS'lar tarafından sentez ediliyor olması bu durumda önemli olabilir. Farklı bir bakış açısıyla bu durumun, L-arjinin ve L-NAME'nin farklı dozlarda ve farklı nöropati modellerinde kullanılması ayrıca allodini ve hiperaljezinin farklı metodlarla değerlendirilmesinden kaynaklandığı da söylenebilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, kolinesteraz inhibitörü ilaçlar içerisinde yeni bir ikinci kuşak AChEİ ilaç olan donepezil'in, STZ ile indüklenen diyabetik nöropatide, termal uyarıcı ile oluşturulan hiperaljeziyi ve mekanik uyarıcı ile oluşturulan allodiniyi azalttığı ve başarılı biçimde tedavi ettiği ortaya konmuştur. Ayrıca bu antihiperaljezik ve antiallodinik etkiye nitrik oksit yolağının katkısı olduğu söylenebilir.

Donepezil'in antiallodinik ve antihiperaljezik etkilerinin L-NAME ile artırılması, NO yolağının diyabetik nöropatik ağrıda önemli olabileceğini göstermektedir. Tedavide NO yolağının hedeflenmesi, DN ağrısının tedavisi için yeni alternatifler sunabilir. Diyabetik nöropatik ağrının tedavisinde birincil hedef, tek ilaçla ağrının tedavisidir. Ancak pratikte bu hedefe ulaşmak zor olduğundan kombine ilaç kullanımına ihtiyaç duyulur. Donepezil ve L-NAME kombinasyonu bu durumda önemli olabilir. Bu çalışma ile elde edilen prelinik bulguların toplum sağlığına yarar sağlayabilmesi için konunun, moleküler düzeyde daha ileri çalışmalarla desteklenmesi ve klinisyenler tarafından ele alınması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abbott CA, Malik RA, van Ross ER, Kulkarni J, Boulton AJ. Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the U.K. *Diabetes Care*. 2011; 34(10):2220-4.
- Abo-Salem OM, Ali TM, Harisa GI, Mehanna OM, Younos IH, et al. Beneficial effects of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on diabetic peripheral neuropathy in the rat model. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020; 34(8):e22508.
- Abd-Elseyed A, Deer TR. Different types of pain. In: Abd-Elseyed A (eds) *Pain* (pp. 15-16). 2019; Springer, Cham.
- Adlimoghaddam A, Neuendorff M, Roy B, Albeni BC. A review of clinical treatment considerations of donepezil in severe Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*. 2018; 24(10):876-888
- Ahlawat A, Rana A, Goyal N, Sharma S. Potential role of nitric oxide synthase isoforms in pathophysiology of neuropathic pain. *Inflammopharmacology*. 2014; 22(5):269-78.
- Akbar S, Subhan F, Karim N, Shahid M, Ahmad N, et al. 6-Methoxyflavanone attenuates mechanical allodynia and vulvodinia in the streptozotocin-induced diabetic neuropathic pain. *Biomed Pharmacother*. 2016;84:962-971.
- Akbarian R, Chamanara M, Rashidian A, Abdollahi A, Ejtemaei Mehr S, et al. Atorvastatin prevents the development of diabetic neuropathic nociception by possible involvement of nitrergic system. *J Appl Biomed*. 2021; 19(1):48-56
- Alaşehirli B. Kolinesteraz İnhibitörleri (Antikolinesterazlar) Türkiye Klinikleri *J Int Med Sci*. 2005;1(18):47-57.
- Albers JW, Herman WH, Pop-Busui R, Feldman EL, Martin CL, et al. Effect of prior intensive insulin treatment during the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on peripheral neuropathy in type 1 diabetes during the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Study. *Diabetes Care*. 2010;33(5):1090-96
- Alcaraz MJ, Guillen MI. The nitric oxide related therapeutic phenomenon: a challenging task. *Curr Pharm Des*. 2002; 8: 215-31.
- Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical journal*. 2001; 357(3): 593-615.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2013; 36 Suppl 1(Suppl 1), 67-74.
- American Diabetes Association Professional Practice Committee 2022.
- Agathos E, Tentolouris A, Eleftheriadou I, Katsaouni P, Nemtzas I, et al. Effect of α -lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy. *J Int Med Res*. 2018; 46(5):1779-1790.
- Aricept Prospektüs. Pfizer Inc, New York, NY 10017.
- Asomugha C, Linn D, Linn C. ACh receptors link two signaling pathways to neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity in isolated RGCs. *J Neurochem*. 2010; 112:214-226
- Atef MM, El-Sayed NM, Ahmed AAM, Mostafa YM. Donepezil improves neuropathy through activation of AMPK signalling pathway in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biochem Pharmacol*. 2019; 159: 1-10.
- Attal N, Cruccu G, Haanpää M, Hansson P, Jensen TS, et al. EFNS Task Force. EFNS guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain. *Eur J Neurol*. 2006 Nov;13(11):1153-69.
- Barrett AM, Lucero MA, Le T, Robinson RL, Dworkin RH, et al. Epidemiology, public health burden, and treatment of diabetic peripheral neuropathic pain: a review. *Pain Med*. 2007; 8 Suppl 2: S50-62.
- Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012; 211:39-50
- Bansal V, Kalita J, Misra UK. Diabetic neuropathy. *Postgrad Med J*. 2006; 82: 95-100.

- Basnet A, Butler S, Honoré PH, Butler M, Gordh TE, et al. Donepezil provides positive effects to patients treated with gabapentin for neuropathic pain: an exploratory study. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2014; 58(1):61-73.
- Basnet A, Butler S, Honoré PH, et al. Donepezil provides positive effects to patients treated with gabapentin for neuropathic pain: an exploratory study. *Acta anaesthesiologica Scandinavica.* 2014;58(1): 61-73.
- Biessels GJ, Bril V, Calcutt NA, Cameron NE, Cotter MA, et al. Phenotyping animal models of diabetic neuropathy: a consensus statement of the diabetic neuropathy study group of the EASD (Neurodiab). *J Peripher Nerv Syst.* 2014; 19(2): 77-87.
- Bhatt KK, Addepalli V. Minocycline with aspirin: a therapeutic approach in the treatment of diabetic neuropathy. *Neurol. Sci.* 2010; 31: 705-716.
- Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Tawari S, Patil S, et al. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Behav Brain Res.* 2011; 220(1): 30-41.
- Bondar A, Popa AR, Papanas N, Popoviciu M, Vesa CM, et al. Diabetic neuropathy: A narrative review of risk factors, classification, screening and current pathogenic treatment options (Review). *Exp Ther Med.* 2021; 22(1): 690.
- Boulton AJ. Diabetic neuropathy and foot complications. *Handb Clin Neurol.* 2014;126:97
- Boyle J, Eriksson ME, Gribble L, Gouni R, Johnsen S, et al. Randomized, placebo-controlled comparison of amitriptyline, duloxetine, and pregabalin in patients with chronic diabetic peripheral neuropathic pain: impact on pain, polysomnographic sleep, daytime functioning, and quality of life. *Diabetes Care.* 2012; 35(12): 2451-8.
- Boyle Y, Fernando D, Kurz H, Miller SR, Zucchetto M, et al. The effect of a combination of gabapentin and donepezil in an experimental pain model in healthy volunteers: Results of a randomized controlled trial. *Pain.* 2014; 155(12): 2510-2516.
- Bril V, England J, Franklin GM, Backonja M, Cohen J, et al. Evidence-based guideline: treatment of painful diabetic neuropathy. *Neurology.* 2011; 76(20): 1758-65.
- Breiner A, Lovblom LE, Perkins BA, Bril V. Does the prevailing hypothesis that small-fiber dysfunction precedes large-fiber dysfunction apply to type 1 diabetic patients? *Diabetes Care.* 2014;37: 1418–1424
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001; 414: 813–820
- Callaghan BC, Xia R, Banerjee M, de Rekeneire N, Harris TB, et al. Health ABC Study. Metabolic Syndrome Components Are Associated With Symptomatic Polyneuropathy Independent of Glycemic Status. *Diabetes Care.* 2016; 39(5): 801-7.
- Cadiou H, Studer M, Jones NG, Smith ES, Ballard A, et al. Modulation of acid-sensing ion channel activity by nitric oxide. *J Neurosci.* 2007; 27(48): 13251-60.
- Çakıroğlu G. AChE inhibitörleri olarak bazı piridin türevleri üzerinde sentez ve biyoaktivite çalışmaları. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi İzmir, 2009 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erçin ERCİYAS)
- Callaghan BC, Cheng HT, Stables CL, Smith AL, Feldman EL. Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments. *Lancet Neurol.* 2012; 11: 521–534
- Calcutt NA, Backonja MM. Pathogenesis of pain in peripheral diabetic neuropathy. *Curr Diab Rep.* 2007; 7: 429-434.
- Cavanagh PR, Simoneau GG, Ulbrecht JS. Ulceration, unsteadiness, and uncertainty: the biomechanical consequences of diabetes mellitus. *J Biomech.* 1993; 26(Suppl 1): 23–40.
- Charnogursky G, Lee H, Lopez N. Diabetic neuropathy. *Handbook of Clinical Neurology.* 2014; 120:773-785.

- Chen YW, Hsieh PL, Chen YC, Hung CH, Cheng JT. Physical exercise induces excess hsp72 expression and delays the development of hyperalgesia and allodynia in painful diabetic neuropathy rats. *Anesth Analg.* 2013; 116(2): 482-90.
- Clayton BA, Hayashida K, Childers SR, Xiao R, Eisenach JC. Oral donepezil reduces hypersensitivity after nerve injury by a spinal muscarinic receptor mechanism. *Anesthesiology.* 2007; 106(5): 1019–1025.
- Cole EB. Pain Management: Classifying, Understanding and Treating Pain, *Hosp. Physician.* 2002; 38 (6): 23-30
- Crawley JN. *Current protocols in neuroscience.* J. Wiley, New York.2001.
- Dableh LJ, Henry JL. The selective neuronal nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole has acute analgesic but not cumulative effects in a rat model of peripheral neuropathy. *Journal of pain research.* 2011; 4: 85–90
- Dambisya YM, Lee TL. Effects L-NG-nitro arginine methyl ester (L-NAME), L-NG monomethyl arginine (L-NMMA) and L-arginine on the antinociceptive effects of morphine in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1995; 17: 577-82.
- Das EN, King GL. The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol Res.* 2007; 55: 498–510
- Davidson E, Coppey L, Lu B, Arballo V, Calcutt NA, et al. The roles of streptozotocin neurotoxicity and neutral endopeptidase in murine experimental diabetic neuropathy. *Exp Diabetes Res.* 2009; 2009: 431980
- Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (WHO/NCD/NCS/99.2). Geneva: World Health Organization; 1999.
- Derry S, Wiffen PJ, Kalso EA, Bell RF, Aldington D, et al. Topical analgesics for acute and chronic pain in adults - an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 5(5): CD008609.
- DiBonaventura MD, Sadosky A, Concialdi K, Hopps M, Kudel I, et al. The prevalence of probable neuropathic pain in the US: results from a multimodal general-population health survey. *J Pain Res.* 2017; 10: 2525-38.
- Drel VR, Lupachyk S, Shevalye H, Vareniuk I, Xu W, et al. New therapeutic and biomarker discovery for peripheral diabetic neuropathy: PARP inhibitor, nitrotyrosine, and tumor necrosis factor- α . *Endocrinology.* 2010; 151(6): 2547-2555
- El-Baz FK, Salama A, Salama RAA. Dunaliella salina Attenuates Diabetic Neuropathy Induced by STZ in Rats: Involvement of Thioredoxin. *Biomed Res Int.* 2020;2020:1295492.
- Elbe H, Esrefoglu M, Vardi N, Taslidere E, Ozerol E, et al. Melatonin, quercetin and resveratrol attenuates oxidative hepatocellular injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Exp Toxicol.* 2015; 34: 859-868.
- Erbas T, Ertas M, Yucel A. Prevalence of peripheral neuropathy and painful peripheral neuropathy in Turkish diabetic patients. *Journal of Clinical Neurophysiology.* 2011; 28(1): 51-55.
- Feldman EL, Nave KA, Jensen TS, Bennett DL. New horizons in diabetic neuropathy: mechanisms, bioenergetics, and pain. *Neuron.* 2017; 93(6): 1296-1313.
- Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, et al. Diabetic neuropathy. *Nature reviews Disease primers.* 2019; 5(1): 1-18.
- Ferrier J, Bayet-Robert M, Dalmann R. Cholinergic Neurotransmission in the Posterior Insular Cortex Is Altered in Preclinical Models of Neuropathic Pain: Key Role of Muscarinic M2 Receptors in Donepezil-Induced Antinociception. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.* 2015; 35(50): 16418–30.
- Forbes J, Cooper M. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013; 93: 137–188.

- Folkesson A, Honoré PH, Andersen L, Kristensen P, Bjerrum OJ. Low dose of donepezil improves gabapentin analgesia in the rat spared nerve injury model of neuropathic pain: single and multiple dosing studies. *Journal of neural transmission*. 2010; 117(12): 1377–85.
- Furchgott R, Zawadzki J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373–6
- Gharaci H, Shadlou H. A brief report on the efficacy of donepezil in pain management in Alzheimer's disease. *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*. 2014; 28(1): 37–39.
- Gao Z, Feng Y, Ju H. The Different Dynamic Changes of Nerve Growth Factor in the Dorsal Horn and Dorsal Root Ganglion Leads to Hyperalgesia and Allodynia in Diabetic Neuropathic Pain. *Pain physician*. 2017; 20(4): E551–E561.
- Gassner M, Leitner J, Gruber-Schoffnegger D, Forsthuber L, Sandkühler J. Properties of spinal lamina III GABAergic neurons in naïve and in neuropathic mice. *Eur J Pain*. 2013; 17(8) :1168-79.
- Ghasemi A, Zahediasl S. Is nitric oxide a hormone? *Iranian Biomedical Journal*. 2011; 15(3): 59.
- Gong YH, Yu XR, Liu HL, Yang N, Zuo PP, et al. Antinociceptive effects of combination of tramadol and acetaminophen on painful diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats *Acta Anaesthesiol Taiwan*. 2011; 49: 16–20.
- Gregg EW, Sorlie P, Paulose-Ram R, Gu Q, Eberhardt MS, et al. Prevalence of lower-extremity disease in the US adult population ≥ 40 years of age with and without diabetes: 1999–2000 national health and nutrition examination survey. *Diabetes Care*. 2004; 27:1591–97.
- Guan Y, Yaster M, Raja SN, Tao YX. Genetic knockout and pharmacologic inhibition of neuronal nitric oxide synthase attenuate nerve injury-induced mechanical hypersensitivity in mice. *Molecular pain*. 2007; 3: 29.
- Hamza M, Wang XM, Wu T, Brahim JS, Rowan JS, et al. Nitric oxide is negatively correlated to pain during acute inflammation. *Mol Pain*. 2010;6:55. Published 2010 Sep 15.
- Haraguchi Y, Mizoguchi Y, Ohgidani M, Imamura Y, Murakawa-Hirachi T, et al. Donepezil suppresses intracellular Ca^{+2} mobilization through the PI3K pathway in rodent microglia. *J Neuroinflammation*. 2017; 14(1): 258.
- Hartvig P, Gillberg PG, Gordh T Jr, Post C. Cholinergic mechanisms in pain and analgesia. *Trends Pharmacol Sci*. 1989; Suppl: 75-79
- Hasanein P, Shahidi S. Effects of combined treatment with vitamins C and E on passive avoidance learning and memory in diabetic rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2010; 93(4): 472-8.
- Hashimoto M, Kazui H, Matsumoto K, Nakano Y, Yasuda M, et al. Does donepezil treatment slow the progression of hippocampal atrophy in patients with Alzheimer's disease? *Am J Psychiatry*. 2005; 162: 676–682.
- Hayashida K, Parker R, Eisenach JC. Oral gabapentin activates spinal cholinergic circuits to reduce hypersensitivity after peripheral nerve injury and interacts synergistically with oral donepezil. *Anesthesiology*. 2007; 106(6): 1213-9.
- Hébert HL, Veluchamy A, Torrance N, Smith BH. Risk factors for neuropathic pain in diabetes mellitus. *Pain*. 2017; 158(4): 560-568.
- Heydari I, Radi V, Razmjou S, Amiri A. Chronic complications of diabetes mellitus in newly diagnosed patients. *International Journal of Diabetes Mellitus* 2010;2:61–63.
- Hintze TH. Prologue: Nitric oxide--hormones, metabolism, and function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001; 281(6): H2253-5.
- Holt RIG, Cockram CS, Flyvbjerg A, Goldstein BJ. *Textbook of Diabetes*. 4th ed. Singapore: Wiley-Blackwell, 2010.
- Huang C, Tong L, Lu X, Wang J, Yao W, et al. Methylene Blue Attenuates iNOS Induction Through Suppression of Transcriptional Factor Binding Amid iNOS mRNA Transcription. *J Cell Biochem*. 2015; 116(8): 1730-40.
- Ibranke GF, Saba OJ, Olopade FO. Glycemic control and pain threshold in alloxan diabetic rats, *African Journal of Biomedical Research*. 2004; 7: 149–151.

- Iqbal Z, Azmi S, Yadav R, Ferdousi M, Kumar M, et al. Diabetic Peripheral Neuropathy: Epidemiology, Diagnosis, and Pharmacotherapy. *Clin Ther.* 2018; 40(6): 828-849.
- International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*, 10th Ed, IDF Press, Bruxelles: 2021. Available at <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. (10 Haziran 2022)
- International Diabetes Federation. *IDF diabetes atlas*. 8th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2017. <http://www.diabetesatlas.org> (9 Ağustos 2022)
- International Association for the Study of Pain. IASP taxonomy. <http://www.iasp-pain.org/Taxonomy?&navItemNumber=576>. Updated October 20, 2014.
- Islam MS. Animal models of diabetic neuropathy: progress since 1960s. *J Diabetes Res.* 2013;2013:149452.
- Jann MW, Shirley KL, Small GW. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41(10): 719-39.
- Jackson S, Ham RJ, Wilkinson D. The safety and tolerability of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol.* 2004;58 Suppl 1(Suppl 1):1-8.
- Jaiswal S, Mishra S, Torgal SS, Shengule S. Neuroprotective effect of epalrestat mediated through oxidative stress markers, cytokines and TAU protein levels in diabetic rats. *Life Sci.* 2018;207:364-371.
- James CF, Tripathi S, Karampatou K, Gladston DV, Pappachan JM. Pharmacotherapy of Painful Diabetic Neuropathy: A Clinical Update. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul.* 2022;56(1):1-20.
- Jia W, Weng J, Zhu D, et al. Standards of medical care for type 2 diabetes in China 2019. *Diabetes Metab Res Rev.* 2019; 35(6): e3158
- Joshi SR. *RSSDI Textbook of Diabetes Mellitus*. Jaypee Brothers Medical Publishers 2020; s:25.
- Kandimalla R, Dash S, Kalita S, Choudhury B, Malampati S, et al. Bioactive Fraction of *Annona reticulata* Bark (or) *Ziziphus jujuba* Root Bark along with Insulin Attenuates Painful Diabetic Neuropathy through Inhibiting NF- κ B Inflammatory Cascade. *Front Cell Neurosci.* 2017; 11: 73.
- Kato K, Hayako H, Ishihara Y, Marui S, Iwane M, Miyamoto M. TAK-147, an acetylcholinesterase inhibitor, increases choline acetyltransferase activity in cultured rat septal cholinergic neurons. *Neurosci Lett.* 1999; 260(1): 5-8.
- Katoulis EC, Ebdon-Parry M, Lanshammar H, Vileikyte L, Kulkarni J, et al. Gait abnormalities in diabetic neuropathy. *Diabetes Care.* 1997 Dec;20(12):1904-7.
- Kawashiri T, Shimizu S, Shigematsu N, Kobayashi D, Shimazoe T. Donepezil ameliorates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via a neuroprotective effect. *J Pharmacol Sci.* 2019; 140(3):291-294.
- Kayaalp SO. Akılclı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 2012. 13. Baskı. 2. Cilt p. 980.
- Kerckhove N, Tougeron D, Lepage C, Pezet D, Le Malicot K, et al. Efficacy of donepezil for the treatment of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: DONEPEZOX, a protocol of a proof of concept, randomised, triple-blinded and multicentre trial. *BMC Cancer.* 2022; 22(1): 742.
- Khan GM, Chen SR, Pan HL. Role of primary afferent nerves in allodynia caused by diabetic neuropathy in rats. *Neuroscience.* 2002; 114(2): 291-9.
- Kiasalari Z, Rahmani T, Mahmoudi N, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Diosgenin ameliorates development of neuropathic pain in diabetic rats: Involvement of oxidative stress and inflammation. *Biomed Pharmacother.* 2017; 86: 654-661.
- Kihara T, Shimohama S, Sawada H, Honda K, Nakamizo T, et al. alpha 7 nicotinic receptor transduces signals to phosphatidylinositol 3-kinase to block A beta-amyloid-induced neurotoxicity. *J Biol Chem.* 2001; 276:13541-13546.
- Kogure T, Sumitani M, Ikegami K, Abe H, Hozumi J, et al. Donepezil, an Acetylcholinesterase Inhibitor, Can Attenuate Gabapentinoid-Induced Somnolence in Patients with Neuropathic Pain: A Retrospective Chart Review. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 2017 Mar;31(1):4-9.

- Kosasa T, Kuriya Y, Matsui K, Yamanishi Y. Effect of donepezil hydrochloride (E2020) on basal concentration of extracellular acetylcholine in the hippocampus of rats. *Eur J Pharmacol.* 1999; 380(2-3): 101-7.
- Kusuda R, Carreira EU, Ulloa L, Cunha FQ, Kanashiro A, Cunha TM. Choline attenuates inflammatory hyperalgesia activating nitric oxide/cGMP/ATP-sensitive potassium channels pathway. *Brain Res.* 2020; 1727: 146567.
- Lavand'homme PM, Eisenach JC. Sex differences in cholinergic analgesia II: differing mechanisms in two models of allodynia. *Anesthesiology.* 1999;91(5):1455-61.
- Leung JY, Kwok EW, Liu GY, Pang CC. Attenuated alpha-adrenoceptor-mediated arterial and venous constrictions in rat models of diabetes. *Eur J Pharmacol.* 2010;642(1-3):128-33.
- Levy RM, Prince JM, Billiar TR. Nitric oxide: a clinical primer. *Crit Care Med.* 2005;33(12 Suppl):S492-5.
- Levy D, Zochodne DW. NO pain: potential roles of nitric oxide in neuropathic pain. *Pain Pract.* 2004;4(1):11-8.
- Liu S, Kelliher L. Physiology of pain-a narrative review on the pain pathway and its application in the pain management. *Dig Med Res.* 2022; 1-10.
- Loscalzo J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser S, Longo D, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine, (Vol. 1 & Vol. 2).* McGraw Hill Professional. 2022;s:275.
- Luo ZD, Cizkova D. The role of nitric oxide in nociception. *Curr Rev Pain.* 2000;4(6):459-66.
- Khdour MR. Treatment of diabetic peripheral neuropathy: a review. *J Pharm Pharmacol.* 2020;72(7):863-872.
- Matsunaga A, Kawamoto M, Shiraishi S, Yasuda T, Kajiyama S, et al. Intrathecally administered COX-2 but not COX-1 or COX-3 inhibitors attenuate streptozotocin-induced mechanical hyperalgesia in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007;5;554(1):12-7.
- Menke A, Casagrande S, Geiss L, Cowie CC. Prevalence of and Trends in Diabetes Among Adults in the United States, 1988-2012. *JAMA.* 2015;8;314(10):1021-9.
- Meller ST, Cummings CP, Traub RJ, Gebhart GF. The role of nitric oxide in the development and maintenance of the hyperalgesia produced by intraplantar injection of carrageenan in the rat. *Neuroscience.* 1994;60(2):367-74.
- Mete S, Aksu F. The Role of Nitrergic System on The Effects of Tramadol and Agmatine in An Experimental Neuropathic Pain Model. *Çukurova Med J.* 2015;40(1):42-54.
- Miclescu A, Gordh T. Nitric oxide and pain: 'Something old, something new'. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2009;53(9):1107-20.
- Mizuno S, Kameda A, Inagaki T, Horiguchi J. Effects of donepezil on Alzheimer's disease: the relationship between cognitive function and rapid eye movement sleep. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2004;58(6):660-5.
- Moraes Wdos S, Poyares DR, Guillemainault C, Ramos LR, Bertolucci PH, et al. The effect of donepezil on sleep and REM sleep EEG in patients with Alzheimer disease: a double-blind placebo-controlled study. *Sleep.* 2006;29(2):199-205.
- Moncada S, Higgs A, Furchgott R. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. *Pharmacol Rev.* 1997;49(2):137-42.
- Morales L, Perez-Garcia C, Alguacil LF. Effects of yohimbine on the antinociceptive and place conditioning effects of opioid agonists in rodents. *Br J Pharmacol.* 2001;133(1):172-8.
- Moriarty O, Lang Y, Idrees Z, McGuire BE, Finn DP. Impaired cued and spatial learning performance and altered cannabinoid CB₁ receptor functionality in the substantia nigra in a rat model of diabetic neuropathy. *Behav Brain Res.* 2016;15;303:61-70.
- Mukae T, Uchida H, Ueda H. Donepezil reverses intermittent stress-induced generalized chronic pain syndrome in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015;353(3):471-9.

- Neuropathic pain in adults: pharmacological management in non-specialist settings. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE). 2020; 22.
- Niimi N, Yako H, Takaku S, Kato H, Matsumoto T, et al. A spontaneously immortalized Schwann cell line from aldose reductase-deficient mice as a useful tool for studying polyol pathway and aldehyde metabolism. *J Neurochem*. 2018;144(6):710-722.
- Oates PJ. Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy. *Int Rev Neurobiol*. 2002;50:325-92.
- Oates PJ. Aldose reductase, still a compelling target for diabetic neuropathy. *Curr Drug Targets*. 2008;9(1):14-36.
- Obermayr RP, Mayerhofer L, Knechtelsdorfer M, Mersich N, Huber ER, et al. 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*. 2005;40(3):157-63.
- O'Brien PD, Sakowski SA, Feldman EL. Mouse models of diabetic neuropathy. *ILAR J*. 2014;54(3):259-72.
- Oghbaei H, Ahmadi Asl N, Sheikhzadeh F. Can regular moderate exercise lead to changes in miRNA-146a and its adapter proteins in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats? *Endocr Regul*. 2017;51(3):145-152.
- Oghbaei H, Alipour MR, Mohaddes G, Hamidian GR, Keyhanmanesh R. Evaluation of ameliorative effect of sodium nitrate in experimental model of streptozotocin-induced diabetic neuropathy in male rats. *Endocr Regul*. 2019;53(1):14-25.
- Oghbaei H, Mohaddes G, Hamidian G, Keyhanmanesh R. Sodium nitrate preconditioning prevents progression of the neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetes Wistar rats. *J Diabetes Metab Disord*. 2020;19(1):105-113.
- Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, Cavan D, Shaw JE, Makaroff LE. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017;128:40-50.
- Oh J. Clinical spectrum and diagnosis of diabetic neuropathies. *Korean J Intern Med*. 2020;35(5):1059-1069.
- O'Connor AB. Neuropathic pain: quality-of-life impact, costs and cost effectiveness of therapy. *Pharmacoeconomics*. 2009;27(2):95-112.
- Pacher P, Liaudet L, Soriano FG, Mabley JG, Szabó E, Szabó C. The role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes*. 2002;51(2):514-21.
- Pafili K, Papanas N, Ziegler D. Neuropathy in Diabetes: "One Cannot Begin It Too Soon". *Angiology*. 2018;69(9):752-754.
- Pabbidi RM, Yu SQ, Peng S, Khardori R, Pauza ME, et al. Influence of TRPV1 on diabetes-induced alterations in thermal pain sensitivity. *Mol Pain*. 2008;4:9.
- Pathak R, Sachan N, Chandra P. Mechanistic approach towards diabetic neuropathy screening techniques and future challenges: A review. *Biomed Pharmacother*. 2022;150:113025.
- Patil CS, Singh VP, Singh S, Kulkarni SK. Modulatory effect of the PDE-5 inhibitor sildenafil in diabetic neuropathy. *Pharmacology*. 2004;72(3):190-5.
- Pirart J. Diabetes mellitus and its degenerative complications: a prospective study of 4,400 patients observed between 1947 and 1973 (3rd and last part) (author's transl). *Diabete Metab*. 1977;3(4):245-56.
- Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman EL, Bril V, Freeman R, et al. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2017;40(1):136-154.
- Pöyhiä R, Xu M, Kontinen VK, Paananen S, Kalso E. Systemic physostigmine shows antiallodynamic effects in neuropathic rats. *Anesth Analg*. 1999;89(2):428-33.
- Pratt RD, Perdomo CA, Surick IW, Ieni JR. Donepezil: tolerability and safety in Alzheimer's disease. *Int J Clin Pract*. 2002;56(9):710-7.

- Prvulovic D, Schneider B. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of donepezil for the treatment of Alzheimer's disease. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2014;10(7):1039-50.
- Quattrini C, Tesfaye S. Understanding the impact of painful diabetic neuropathy. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003;19 Suppl 1:S2-S8.
- Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*. 2020;161(9):1976-1982.
- Raisian D, Erfanparast A, Tamaddonfard E, Soltanilinejad-Taghiabad F. Medial prefrontal cortex nitric oxide modulates neuropathic pain behavior through mu opioid receptors in rats. *Korean J Pain*. 2022;35(4):413-422.
- Reale M, Iarlori C, Gambi F, Feliciani C, Isabella L, et al. The acetylcholinesterase inhibitor, Donepezil, regulates a Th2 bias in Alzheimer's disease patients. *Neuropharmacology*. 2006;50(5):606-13.
- Rendell MS. The time to develop treatments for diabetic neuropathy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2021;30(2):119-130.
- Rocha IRC, Ciená AP, Rosa AS, Martins DO, Chacur M. Photobiostimulation reverses allodynia and peripheral nerve damage in streptozotocin-induced type 1 diabetes. *Lasers Med Sci*. 2017;32(3):495-501.
- Roep BO, Peakman M. Antigen targets of type 1 diabetes autoimmunity. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(4):a007781.
- Rogers SL, Farlow MR, Doody RS, Mohs R, Friedhoff LT. 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.
- Román-Pintos LM, Villegas-Rivera G, Rodríguez-Carrizalez AD, Miranda-Díaz AG, Cardona-Muñoz EG. Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *J Diabetes Res*. 2016;2016:3425617.
- Román GC, Rogers SJ. Donepezil: a clinical review of current and emerging indications. *Expert Opin Pharmacother*. 2004;5(1):161-80.
- Rosenberg CJ, Watson JC. Treatment of painful diabetic peripheral neuropathy. *Prosthet Orthot Int*. 2015;39(1):17-28.
- Rosenberger DC, Blechschmidt V, Timmerman H, Wolff A, Treede RD. Challenges of neuropathic pain: focus on diabetic neuropathy. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020;127(4):589-624.
- Satman I, Bayirlioglu S, Okumus F, Erturk N, Yemenici M, et al. Trends and Forecasts on Prediabetes and Diabetes in Adult and Elderly Population in Turkey, 2022.
- Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*. 2002;25(9):1551-6.
- Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, et al. TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(2):169-80.
- Schmauss C, Yaksh TL. In vivo studies on spinal opiate receptor systems mediating antinociception. II. Pharmacological profiles suggesting a differential association of mu, delta and kappa receptors with visceral chemical and cutaneous thermal stimuli in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 1984;228(1):1-12.
- Schmidtko A. Nitric oxide-mediated pain processing in the spinal cord. *Handbook of experimental pharmacology*. 2015; 227: 103–117.
- Seltzer B. Donepezil: a review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2005;1(3):527-36.
- Selvy M, Mattévi C, Dalbos C, Aissouni Y, Chapuy E, et al. Analgesic and preventive effects of donepezil in animal models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Involvement of spinal muscarinic acetylcholine M2 receptors. *Biomed Pharmacother*. 2022;149:112915.

- Singh R, Kishore L, Kaur N. Diabetic peripheral neuropathy: current perspective and future directions. *Pharmacol Res.* 2014;80:21-35.
- Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK. Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res.* 2007;21(3):278-83.
- Singleton JR, Bixby B, Russell JW, Feldman EL, Peltier A, et al. The Utah Early Neuropathy Scale: a sensitive clinical scale for early sensory predominant neuropathy. *J Peripher Nerv Syst.* 2008;13(3):218-27.
- Singleton JR, Smith AG. The diabetic neuropathies: practical and rational therapy. *Semin Neurol.* 2012;32: 196-203.
- Slatkin NE, Rhiner M. Treatment of opiate-related sedation: utility of the cholinesterase inhibitors. *J Support Oncol.* 2003;1(1):53-63.
- Shepherd G, Klein-Schwartz W, Edwards R. Donepezil overdose: a tenfold dosing error. *Ann Pharmacother.* 1999;33(7-8):812-5.
- Schmader KE. Epidemiology and impact on quality of life of postherpetic neuralgia and painful diabetic neuropathy. *Clin J Pain.* 2002;18(6):350-4.
- Shillo P, Selvarajah D, Greig M, Gandhi R, Rao G, et al. Reduced vitamin D levels in painful diabetic peripheral neuropathy. *Diabet Med.* 2019;36(1):44-51.
- Sokolovska J, Isajevs S, Sugoka O, Sharipova J, Lauberte L, et al. Influence of metformin on GLUT1 gene and protein expression in rat streptozotocin diabetes mellitus model. *Arch Physiol Biochem.* 2010;116(3):137-45.
- Smith S, Normahani P, Lane T, Hohenschurz-Schmidt D, Oliver N, et al. Prevention and Management Strategies for Diabetic Neuropathy. *Life (Basel).* 2022;3;12(8):1185.
- Staunton CA, Barrett-Jolley R, Djouhri L, Thippeswamy T. Inducible nitric oxide synthase inhibition by 1400W limits pain hypersensitivity in a neuropathic pain rat model. *Exp Physiol.* 2018;103(4):535-544.
- Stino AM, Smith AG. Peripheral neuropathy in prediabetes and the metabolic syndrome. *J Diabetes Investig.* 2017;8:646-655
- Sun G, Wang J, Wang P, Ren H, Yue Y, et al. Donepezil protects glycerol-induced acute renal failure through the cholinergic anti-inflammatory and nitric oxide pathway in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2020;42(6):625-631.
- Tan SY, Mei Wong JL, Sim YJ, Wong SS, Mohamed Elhassan SA, et al. Type 1 and 2 diabetes mellitus: A review on current treatment approach and gene therapy as potential intervention. *Diabetes Metab Syndr.* 2019;13(1):364-372.
- Tang X, Li Z, Zhang W, Yao Z. Nitric oxide might be an inducing factor in cognitive impairment in Alzheimer's disease via downregulating the monocarboxylate transporter 1. *Nitric Oxide.* 2019;91:35-41.
- Tedesco LS, Fuseler J, Grisham M, Wolf R, Roerig SC. Therapeutic administration of nitric oxide synthase inhibitors reverses hyperalgesia but not inflammation in a rat model of polyarthritis. *Pain.* 2002;95(3):215-223.
- Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SE, Ward JD, Manes C, et al; EURODIAB Prospective Complications Study Group. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med.* 2005;352(4):341-50.
- Tesfaye S, Vileikyte L, Rayman G, Sindrup SH, Perkins BA, et al; Toronto Expert Panel on Diabetic Neuropathy. Painful diabetic peripheral neuropathy: consensus recommendations on diagnosis, assessment and management. *Diabetes Metab Res Rev.* 2011;27(7):629-38.
- Thomas PK. Classification, differential diagnosis, and staging of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes.* 1997;46 Suppl 2:S54-7.
- Truini A, Spallone V, Morganti R, Tamburin S, Zanette G, et al. Neuropathic Pain Special Interest Group of the Italian Society of Neurology. A cross-sectional study investigating frequency and features of definitely diagnosed diabetic painful polyneuropathy. *Pain.* 2018;159(12):2658-2666.

- Turk DC, Okifuji A. Pain terms and taxonomies of pain. In: Loeser JD, et al., editors. *Bonica's management of pain*. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia; 2001. p. 17–25.
- Ur Rehman N, Al-Rashida M, Tokhi A, Ahmed Z, Subhan F, et al. Analgesic and Antiallodynic Effects of 4-Fluoro-N-(4-Sulfamoylbenzyl) Benzene Sulfonamide in a Murine Model of Pain. *Drug Des Devel Ther*. 2020;14:4511-4518.
- Vargas F, Moreno JM, Wangenstein R, Rodríguez-Gómez I, García-Estañ J. The endocrine system in chronic nitric oxide deficiency. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(1):1-12.
- Venturelli M, Pedrinolla A, Boscolo Galazzo I, Fonte C, Smania N, et al. Impact of Nitric Oxide Bioavailability on the Progressive Cerebral and Peripheral Circulatory Impairments During Aging and Alzheimer's Disease. *Front Physiol*. 2018;9:169.
- Verkhatsky A, Fernyhough P. Calcium signalling in sensory neurones and peripheral glia in the context of diabetic neuropathies. *Cell Calcium*. 2014;56(5):362-71.
- Vinik AI. Diabetic neuropathy: pathogenesis and therapy. *Am J Med*. 1999;107:17-26
- Vinik EJ, Hayes RP, Oglesby A, Bastyr E, Barlow P, et al. The development and validation of the Norfolk QOL-DN, a new measure of patients' perception of the effects of diabetes and diabetic neuropathy. *Diabetes Technol Ther*. 2005;7(3):497-508.
- Vinik AI, Nevoret ML, Casellini C, Parson H. Diabetic neuropathy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2013;42(04):747–787.
- Wilkinson D, Murray J. Galantamine: a randomized, double-blind, dose comparison in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2001;16(9):852-57.
- World Health Organization. (2018). *Global report on diabetes*. 2016.
- Yamamoto H, Shimoshige Y, Yamaji T, Murai N, Aoki T, et al. Pharmacological characterization of standard analgesics on mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neuropharmacology*. 2009;57(4):403-8.
- Yan JE, Yuan W, Lou X, Zhu T. Streptozotocin-induced diabetic hyperalgesia in rats is associated with upregulation of Toll-like receptor 4 expression. *Neurosci Lett*. 2012;526(1):54-8.
- Yang K, Wang Y, Li YW, Chen YG, Xing N, et al. Progress in the treatment of diabetic peripheral neuropathy. *Biomed Pharmacother*. 2022;148:112717.
- Yavuz D.G. Chapter 1 - Classification, risk factors, and clinical presentation diabetic neuropathy, Editor(s): Mitra Tavakoli, *Diabetic Neuropathy*, Elsevier, 2022, Pages 1-9.
- Yılmaz T, Kaya A, Balcı MK, Bayraktar F, Dağdelen S, Şahin İ, Sargın M. *TÜRKDİAB diyabet tanı ve tedavi rehberi*, 2019.
- Yoon YW, Sung B, Chung JM. Nitric oxide mediates behavioral signs of neuropathic pain in an experimental rat model. *Neuroreport*. 1998;9(3):367-72.
- Yorek M. Treatment for Diabetic Peripheral Neuropathy: What have we Learned from Animal Models? *Curr Diabetes Rev*. 2022;18(5):e040521193121.
- Young MJ, Boulton AJ, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia*. 1993;36(2):150-4.
- Zakin E, Abrams R, Simpson DM. Diabetic Neuropathy. *Semin Neurol*. 2019;39(5):560-569.
- Zochodne D. Mechanisms of diabetic neuron damage: molecular pathways. *Handb Clin Neurol* 2014; 126: 379–399.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Durmuş Ali	Soyadı	ASLANLAR
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
E-mail		Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi	2009
Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi Sağlık Yönetimi	2017
Doktora		

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Başhekim yardımcısı	Meram Devlet Hastanesi	2021-
Başkan yardımcısı	Konya İl Sağlık Müdürlüğü	2017-2021
Başhekim	İçeriçumra İlçe Devlet Hastanesi	2016-2017
Şube Müdürü	Konya İl Sağlık Müdürlüğü	2012-2016
Sağlık Grup Başkanı	Beyşehir Sağlık Grup Başkanlığı	2010-2012
Tabib	Doğanbey Sağlık Ocağı	2009-2010

Yabancı Dil	İngilizce, Yökdil: 76,25
--------------------	--------------------------

Sertifikaları

- Kupa Uygulama (Sağlık Bakanlığı)
- Hirudoterapi (Sağlık Bakanlığı)

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2021 – 038

Karar Tarihi: 06.07.2021

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ABD'den Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK ve Dr. Durmuş Ali ASLANLAR' ın sunduğu **"Sıçanlarda Diyabetik Nöropatik Ağrıya Karşı Donepezil'in Etkisi ve Nitrik Oksid'in Rolü"** başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 5 grupta toplam 56 adet sıçan kullanılacağı ve derin anestezi altında dekapite edilerek sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ
Başkan