

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI



RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL LOPERAMİDLE
UYARILMIŞ KARDİYAK HASARDA AMLODİPİNİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. ESRA FIRAT

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ MUSTAFA ENES DEMİREL

BOLU, EKİM - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Esra FIRAT tarafından hazırlanan “**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL LOPERAMİDLE UYARILMIŞ KARDİYAK HASARDA AMLODİPİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Acil Tıp Anabilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir. 27/10/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Enes DEMİREL
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Kaan ÇELİK
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Beliz ÖZTOK TEKTEN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 19.10.2023 tarihinde Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %8 olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan 2022/32 sayısı ile etik izin alınmıştır.

ESRA FIRAT

ÖZET

‘RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL LOPERAMİDLE UYARILMIŞ KARDİYAK HASARDA AMLODİPİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI’

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. ESRA FIRAT

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ MUSTAFA ENES DEMİREL)

BOLU, EKİM - 2023
XV + 85

Amaç: Ratlarda; deneysel olarak loperamidle oluşturulan kardiyak toksisitede, amlodipinin koruyucu ve tedavi edici etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Toplam 43 adet Wistar Albino rat 5 gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol)’e 10 gün boyunca 0,3mL serum fizyolojik orogastrik gavaj ile verildi. Kontrol grubu dışındakilere kardiyotoksosite oluşturmak için 6mg/kg/gün dozunda loperamid, 7 gün boyunca orogastrik gavaj ile verildi. Koruyucu olarak Grup 3 ve Grup 5’e loperamidle beraber amlodipin; 5mg/kg/gün dozunda ilk 7 gün boyunca verildi. Tedavi edici olarak Grup 4 ve Grup 5’e toksisite sonrası 3 gün aynı dozdan sadece amlodipin verildi. Çalışma sonunda serumda kardiyak troponin I (cTnI), süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehit (MDA) ve katalaz (CAT) değerleri Elisa kitlerinde çalışıldı. Kalp dokusunun histolojik değerlendirmesi yapıldı. İki bağımsız grup Bağımsız Örneklem T Testi, ikiden fazla grup tek yönlü varyans analizi (Post Hoc: LSD, Bonferroni), normal dağılım göstermeyen gruplar Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Grup 2’nin cTnI düzeyi kontrol grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,001$). Grup 2 ‘nin MDA düzeyi diğer gruplara göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0,001$). Grup 2’nin SOD ve CAT düzeyi diğer gruplara kıyasla anlamlı düşük saptandı ($p<0,001$). Loperamid alan grupların histopatolojik parametrelerdeki düzeyi kontrol grubuna göre artış gösterdi ($p<0,05$). Grup 2’nin nekrozis düzeyi Grup 3 ve 5’e göre anlamlı yüksekti ($p<0,01$). Grup 4’ün histopatolojik bazı özelliklerdeki düzeyi Grup 3 ve 5’e göre anlamlı yüksek saptandı ($p<0,05$).

Sonuç: Loperamidin tetiklediği kardiyotoksisitede, tüm bulgular ışığında sonuçlarımız; amlodipinin koruyucu ve tedavi edici bir ajan olabileceğini ortaya koymaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: Loperamid, Kardiyotoksosite, Amlodipin

ABSTRACT

‘INVESTIGATION OF THE EFFECT OF AMLODIPINE ON EXPERIMENTAL LOPERAMIDE-INDUCED CARDIAC INJURY IN RATS’

MEDICAL SPECIALITY THESIS

DR. ESRA FIRAT

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY
FACULTY OF MEDICINE
DEPARTMENT OF EMERGENCY MEDICINE

(SUPERVISOR: ASSIST. PROF. DR. MUSTAFA ENES DEMIREL)

BOLU, OCTOBER 2023

XV + 85

Objective: The aim is to investigate the protective and therapeutic effects of amlodipine on cardiac toxicity induced experimentally with loperamide in rats.

Materials and Methods: A total of 43 Wistar Albino rats were divided into 5 groups. In Group 1 (Control), 0.3 mL of saline solution was administered through an orogastric gavage for 10 days. Loperamide was administered at a dose of 6 mg/kg/day for 7 days via orogastric gavage to induce cardiotoxicity in groups other than the control group. As a protective measure, amlodipine was administered in combination with loperamide to Group 3 and Group 5 at a dose of 5 mg/kg/day for the first 7 days. As a therapeutic intervention, only amlodipine was administered to Group 4 and Group 5 at the same dose for 3 days following toxicity. At the end of the study, cardiac troponin I (cTnI), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT) levels in the serum were analyzed using Elisa kits. Histological evaluation of the heart tissue was performed. Two independent groups were compared using Independent Samples T-Test, while more than two groups were analyzed using one way analysis of variance (Post Hoc: LSD, Bonferroni). Groups that did not show a normal distribution were compared using the Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis one way analysis of variance.

Results: The cTnI levels of Group 2 were found to be significantly higher than the control group ($p<0.001$). The MDA levels of Group 2 were significantly higher compared to the other groups ($p<0.001$). The SOD and CAT levels of Group 2 were found to be significantly lower than the other groups ($p<0.001$). The groups receiving loperamide showed an increase in histopathological parameters compared to the control group ($p<0.05$). The level of necrosis in Group 2 was significantly higher than in Group 3 and 5 ($p<0.01$). The level of certain histopathological features in Group 4 was significantly higher compared to Groups 3 and 5 ($p<0.05$).

Conclusion: In light of all the findings in loperamide-induced cardiotoxicity, our results suggest that amlodipine may serve as a protective and therapeutic agent.

KEYWORDS: Loperamide, Cardiotoxicity, Amlodipine

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Loperamid	3
2.1.1 Loperamidin Genel Özellikleri	3
2.1.2 Loperamidin Kimyasal Yapısı.....	4
2.1.3 Loperamidin Yan Etkileri ve Toksisitesi.....	6
2.1.4 Loperamid Kardiyotoksisitesi İyon Kanalları Üzerine Etkisi	9
2.1.5 Loperamidin Kariyak Toksisitesinde Görülen Aritmiler ve Tedaviye Yaklaşım	10
2.1.6 Loperamid Kardiyotoksisitesi Olgu Sunumları	19
2.2 Amlodipin	24
2.2.1 Amlodipinin Kimyasal Özellikleri	24
2.2.2 Amlodipinin Farmakodinamiği	25
2.2.3 Amlodipinin Farmakokinetiği	28
2.2.4 Amlodipinin Antioksidan Etkisi.....	29
2.2.5 Amlodipinin Yan Etkisi.....	31
2.3 Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	33
2.4 Antioksidan Enzimler	37
2.4.1 Süperoksit Dismutaz.....	38
2.4.2 Katalaz	38
2.5 Kardiyak Hasarın Belirlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler.....	39
2.5.1 Miyogloblin	40
2.5.2 Laktat Dehidrojenaz 1	40
2.5.3 Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz İzoenzim MB	41
2.5.4 Kardiyak Troponinler	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1 Gereç	43
3.1.1 Çalışmanın Etik Kurulu Onayı ve Proje Desteği.....	43

3.1.2 Deneklerin Özellikleri ve Bakımı.....	43
3.1.3 Çalışmada Kullanılan İlaçlar	43
3.2 Yöntem	43
3.2.1 Grupların Oluşturulması.....	44
3.2.2 Biyokimyasal ve Histopatolojik Analiz İçin Örnek Temini	47
3.2.3 Biyokimyasal Analiz	47
3.2.4 Histopatolojik Analiz.....	48
3.2.5 İstatistiksel Analiz	48
4. BULGULAR	50
4.1 Biyokimyasal Parametrelerdeki Bulgular	50
4.2 Histopatolojik Bulgular	53
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR.....	75



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Loperamidin Kimyasal Yapısı (17)	5
Şekil 2.2. Normal EKG’de QT aralığı	11
Şekil 2.3. Uzun QT Aralığı	11
Şekil 2.4. Uzun QT Sendromu Vakası EKG Örneği	12
Şekil 2.5. Prematür Ventriküler Kompleksler (PVC) EKG Örneği.....	13
Şekil 2.6. Monomorfik Ventriküler Taşikardi (MMVT)	13
Şekil 2.7. Polimorfik Ventriküler Taşikardi (PMVT) EKG Örneği	14
Şekil 2.8. Ventriküler Fibrilasyon (VF) EKG Örneği	15
Şekil 2.9. Torsedes de Pointes (TdP) EKG Örneği.....	16
Şekil 2.10. Brugada Sendromu (BrS) EKG Örneği	17
Şekil 2.11. Brugada Tip1 ve Tip2 Patern Ekg Örneği	18
Şekil 2.12. Amlodipinin Kimyasal Formülü.....	25
Şekil 4.1. Ratlarda Ölçülen Serum CAT Düzeyleri	51
Şekil 4.2. Ratlarda Ölçülen Serum MDA Düzeyleri.....	51
Şekil 4.3. Ratlarda Ölçülen Serum SOD Düzeyleri	52
Şekil 4.4. Ratlarda Ölçülen Serum cTnI Düzeyleri	53
Şekil 4.5. Kontrol ve KT Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri.....	58
Şekil 4.6. KT ve KT+AN1 Gruplarının Nekrozis Düzeyleri	59
Şekil 4.7. KT ve KT+AN3 Gruplarının Nekrozis Düzeyleri	60
Şekil 4.8. KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özellikleri	61
Şekil 4.9. Kontrol ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri	62
Şekil 4.10. Kontrol ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri	63
Şekil 4.11. Kontrol ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri	64
Şekil 4.12. Rat miyokardındaki histopatolojik görüntüler. Normal histolojik görünüm (a); KT grubu (b); KT+AN1 grubu (c); KT+AN2 grubu (d); KT+AN3 grubu (e). Miyokardiyal dejenerasyon (*), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı), nekrozis (kalın ok), vakuolizasyon (ince ok) H&E boyama, X400 büyütme.....	65

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. Grupların Dağılımı.	50
Tablo 4.2. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi.	50
Tablo 4.3. Çalışmadaki Histopatolojik Özelliklerin Dağılımı.	53
Tablo 4.4. Miyokardiyal Dejenerasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.	54
Tablo 4.5. Grupların Vakuolizasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.	55
Tablo 4.6. Grupların Nekrozis Düzeylerinin Karşılaştırılması.	55
Tablo 4.7. Grupların İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu Düzeylerinin Karşılaştırılması.	56
Tablo 4.8. Grupların Mast Hücre Yoğunluğu Düzeylerinin Karşılaştırılması.	57
Tablo 4.9. Kontrol ve KT Grubunun Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	57
Tablo 4.10. KT ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	58
Tablo 4.11. KT ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	59
Tablo 4.12. KT ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	60
Tablo 4.13. KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	61
Tablo 4.14. Kontrol ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	62
Tablo 4.15. Kontrol ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	63
Tablo 4.16. Kontrol ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.	64

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Euro Type 4 Kafes İçinde Barındırılan Deney Ratları.....	45
Fotoğraf 3.2. İlaç Uygulamada Kullanılan 16G Orogastrik Gavaj	45
Fotoğraf 3.3. Ratlara Loperamid Uygulaması	46
Fotoğraf 3.4. Kalp Dokuları Alınmak Üzere Sakrifiye Edilen Rat.....	46
Fotoğraf 3.5. Taze Hazırlanan Loperamid ve Amlodipin Çözeltileri	47



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ACCF	:	Amerikan Kardiyoloji Vakfı
ACE	:	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AHA	:	Amerikan Kalp Derneği
AICD	:	Otomatik İmplant Edilebilir Kardiyoverter Defibrilatör
AMI	:	Akut Miyokard Enfarktüsü
AP	:	Aksiyon Potansiyeli
AST	:	Aspartat Aminotransferaz
ATP	:	Adenozin Trifosfat
AV	:	Atrioventriküler
BAİBÜ	:	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi
BrP	:	Brugada Fenotipi
BrS	:	Brugada Sendromu
BTA	:	Bilgisayarlı Tomografi Anjiyografisi
CAT	:	Katalaz
CK	:	Kreatin Kinaz
CK-MB	:	Kreatin Kinaz İzoenzim MB
Cl⁻	:	Klorür İyonu
CPK	:	Kreatin Fosfokinaz
CPR	:	Kardiyopulmoner Resüsitasyon
cTnI	:	Kardiyak Troponin I
cTnT	:	Kardiyak Troponin T
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
EAD	:	Erken After Depolarizasyon
EDRF	:	Endotel Kökenli Gevşeme Faktörü
EEG	:	Elektroensefalografi
EF	:	Ejeksiyon Fraksiyonu
EKG	:	Elektrokardiyografi
eNOS	:	Nitrik Oksit Sentaz
ETC	:	Elektron Taşıma İşlemi
°F	:	Fahrenheit
FDA	:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi

GPx	:	Glutasyon Peroksidaz
GR	:	Glutasyon Redüktaz
H	:	Hidrojen
HMG-CoA:		Hidroksimetilglutaril Koenzim A
H₂O₂	:	Hidrojen Peroksit
HOCl	:	Hipokloröz Asit
HPLC	:	Doğrudan Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ICD	:	Implante Edilebilir Kardiyoverter-Defibrilatör
I/R	:	İskemi-Reperfüzyon
İKYD	:	İleri Kardiyak Yaşam Desteği
iNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
iv	:	İntravenöz
K⁺	:	Potasyum
LDH	:	Laktat Dehidrojenaz
LDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LQTS	:	Uzun QT Sendromu
MDA	:	Malondialdehit
mEq	:	Miliekivalen
MMVT	:	Monomorfik Ventriküler Taşikardi
MR	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
mV	:	Milivolt
Na⁺	:	Sodyum
NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NO	:	Nitrik Oksit
NPDS	:	Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Zehir Veri Sistemi
O₂	:	Oksijen Molekülü
O₂^{o-}	:	Süperoksit
O₃	:	Ozon
OH[·]	:	Hidroksil Radikali
OH⁻	:	Hidroksil Anyonu
ONOO⁻	:	Peroksinitrit
PMVT	:	Polimorfik Ventriküler Taşikardi
PO	:	Peroral

PUFA	:	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
PVC	:	Prematür Ventriküler Kompleks
RI	:	Göreceli İndeks Skoru
RO2	:	Peroksil
RONs	:	Reaktif Azot Türleri
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
SpO2	:	Oksijen Satürasyonu
SSS	:	Santral Sinir Sistemi
TdP	:	Torsades de Pointes
Tmax	:	Ortalama Pik Konsantrasyon Zamanı
VF	:	Ventriküler Fibrilasyon
VT	:	Ventriküler Taşikardi

TEŞEKKÜR

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Tıp Anabilim Dalı'ndaki acil tıp uzmanlık eğitimim sürecinde; bilgi, düşünce ve deneyimlerinden faydalandığım, tez konusunun kararlaştırılmasından tamamlanmasına kadar her aşamasında deneyim ve görüşlerini paylaşan, değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Enes DEMİREL'e

Hem eğitim ve öğretim hem de acil servisin işleyişi ve yönetimi hususunda Acil Tıp kliniğinin yüksek tatmin ve huzurla çalışabileceğimiz bir ortam haline getirilmesi için her türlü özveri ve fedakârlığı göstermekten çekinmeyen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Kaan ÇELİK'e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Beliz ÖZTOK TEKTEN'e

Acil tıp kliniğinde beraber çalıştığım çok değerli uzman doktorlara, araştırma görevlisi doktor arkadaşlarıma, hemşire, sağlık memuru ve diğer tüm çalışma arkadaşlarıma,

Benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla...

DR. ESRA FIRAT
BOLU

1. GİRİŞ

Loperamid, yaygın reçetesiz satılan bir ishal ilacıdır (1,2). Loperamid hidroklorür, diyare, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve gastroenteriti kontrol etmek için pazarlanan bir difenilmetanpiperidin bileşiğidir (1,3). Büyük miktarlarda alındığında veya farmakokinetiğini değiştiren ilaçlarla birlikte alındığında, merkezi sinir sisteminde opioid etkiler gösterir. Bunlar öfori, santral sinir sistemi (SSS) depresyonu, miyozis ve solunum depresyonunu içerir (4). SSS etkilerine ek olarak, yüksek dozda loperamid aynı zamanda kardiyak miyositlere de etki eder. Son zamanlarda, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), ilacın 1976'da onaylanmasından bu yana 48 loperamid kardiyak vakasına atıfta bulunarak, varsayılan loperamid toksisitesi vakalarını derlemeye başlamıştır ve vakaların yarısı yalnızca 2010 yılında ortaya çıkmıştır (5).

Bildirilen loperamid toksisitesi vakalarında, azalan sıklık sırasına göre kardiyak olaylar şu şekildedir: senkop, kardiyak arrest, QT aralığı uzaması, ventriküler taşikardi (VT), Torsades de Pointes (TdP) ve Brugada paterni (4). Bu aritmilerin ölümcül potansiyeli nedeniyle klinisyenler; çarpıntı, göğüs ağrısı ve aritmi gibi atipik bulguları olan hastalarda loperamid kullanımını taramalıdır (6).

Deneyssel bir çalışmada sıçanlarda loperamid kaynaklı kardiyotoksisiteyi değerlendirmek için kardiyak ve oksidatif biyobelirteçler kullanılmıştır. Sıçanların, 7 gün boyunca 1.5, 3 ve 6 mg/kg vücut ağırlığı dozunda loperamid hidroklorür ile oral sondayla beslenmesi sağlanmıştır. Yedi günlük loperamid uygulamasından sonraki sonuçlar değerlendirildiğinde loperamid; sıçanlarda oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) fragmentasyonu yoluyla kardiyotoksisiteye neden olduğu görülmüştür (7).

Amlodipin, temel bir dihidropiridin türevidir. Periferik vasküler ve koroner düz kas hücrelerindeki 'yavaş' kanallar yoluyla kalsiyum akışını inhibe ederek periferik ve koroner vasküler yataklarda belirgin vazodilatasyon sağlar. Amlodipin, periferik vasküler direnci ve dolayısıyla art yükü önemli ölçüde azaltmanın yanı sıra kardiyak debiyi artırır ve kardiyak atımda kalbin işini azaltır. Amlodipin, ardyükü azaltma kabiliyetine ek olarak, semptomatik miyokardiyal iskemisi olan hastalarda miyokardiyal oksijen arzını artırır, talebi azaltır ve egzersiz kapasitesini geliştirir. Hayvan çalışmaları, amlodipin için hem in vivo

hem de in vitro iskemi-reperfüzyon (I/R) modellerinde kardiyoprotektif bir etki göstermiştir (8).

Benzersiz bir üçüncü nesil dihidropiridin tipi kalsiyum kanal blokeri olan amlodipinin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin oksidasyonunu azalttığı ve SOD aktivitesini koruduğu bildirilmiştir (9). Bir başka çalışmada amlodipinin, antiproliferatif, antioksidan aktiviteleri ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivasyonu yoluyla nitrik oksit (NO) salınımını uyarma yeteneği sergilediği bulunmuştur (10).

Literatür taraması yapıldığında loperamidin kötüye kullanımına bağlı acil servise kardiyotoksisite belirti ve bulgularıyla gelen hastalara, şu ana kadar oluşturulmuş bir tedavi protokolü mevcut değildir (3). İlaça bağlı kardiyotoksisite oluşturulmuş bazı deney modellerinde amlodipin çalışılmış olmasına rağmen loperamide bağlı kardiyak hasarda; kardiyak etkilenimi araştırma noktasında, amlodipinin etkisiyle ilgili bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmamızda loperamide bağlı gelişmiş kardiyak hasarda kullanılacak olan amlodipinin antioksidan yollar üzerinden koruyucu ve iyileştirici etkisini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Loperamid

Loperamid, ishalin semptomatik tedavisinde kullanılan antidiyareik bir ilaçtır. Loperamid, bağırsak hareketlerini yavaşlatıp bağırsaklardaki sıvı salınımını azaltarak dışkıyı daha sıkı hale getirmektedir. Çalışmanın bu kısmında loperamid hakkında detaylı bir inceleme yapılacaktır. Bu bağlamda loperamidin genel özelliklerinin yanı sıra tıbbi tablosu da açıklanacaktır.

2.1.1 Loperamidin Genel Özellikleri

Loperamid, 1969'da yapılan, ilk olarak 1976'da tıbbi olarak kullanılan ve 1988'de reçetesiz olarak temin edilebilen oral ishal önleyici bir ajandır (11). FDA; gezgin ishali, kronik ishale ilişkili irritabl bağırsak sendromu, iki yaş ve üzeri hastalarda akut nonspesifik ishal de dahil olmak üzere çeşitli ishal türlerinin tedavisi için ve ileostomi çıkışını azaltmak için endike olan loperamidi onayladı (12).

Loperamid güçlü bir μ -opioid reseptör agonistidir. Gastrointestinal sistemden iyi emilmesine rağmen, loperamid neredeyse tamamen karaciğerde konjuge olduğu ve konjugatların safra ile atıldığı yer olan sitokrom P450 (özellikle CYP3A4) tarafından metabolize edilir (13).

Loperamidin ishal önleyici etkisi, bağırsak duvarına doğrudan emilmesinden kaynaklanır. Morfin ve diğer μ -reseptör agonistleri gibi loperamid; longitudinal kas tabakasındaki itici gücü olmayan miyenterik plexusun aktivitesini arttırıp bağırsağın itici gücünü azaltarak bağırsak geçiş süresini artırır. Loperamid, ayrıca anal sfinkter tonusunu arttırır ve gece kontinansı iyileştirir (13).

Loperamid, çeşitli formülasyonlarda mevcuttur. Dil üzerinde eriyen, ağızda dağılan tabletler kapsüllere biyoeşdeğerdir ve bazı hastalar tarafından tercih edilir. Akut diyarede 4 mg peroral (PO) ile başlanır. 5 güne kadar her gevşek bağırsak hareketinden sonra 2mg ile devam edilir ve önerilen maksimum doz 16mg/24 saattir. Kronik diyarede etkili doz büyük ölçüde değişir. Palyatif bakımda, bazen dozun 32mg/24 saate kadar artırılması gerekebilir; ki bu önerilen günlük maksimum dozun iki katıdır (13).

Loperamid güçlü bir μ -opioid reseptör agonisti olmasına rağmen, düşük oral biyoyararlanımı ve kan beyin bariyeri zayıf penetrasyonu nedeniyle kötüye

kullanım potansiyelini sınırlar. Bununla birlikte en son opioid kötüye kullanımı salgını, yoksunluk semptomlarını hafifletme çabasıyla veya çeşitli internet sitelerinin öfori oluşturmak için ilacın kullanımını teşvik etmesiyle, büyük miktarda tüketimle karakterize loperamidin diğer opioidlerle birlikte kötüye kullanımı dalgasını oluşturmuştur (14).

Loperamid önerilen dozda, hızla metabolize edildiğinden ve SSS'den p-glikoprotein tarafından hızla atıldığından kötüye kullanım potansiyeli olduğu düşünülmaz. Loperamid yetişkinlerde terapötik dozlarda iyi tolere edilmesine rağmen aşırı dozda tüketen kişilerde opioid benzeri zehirlenmeye neden olduğu bildirilmiştir (15).

2010 ve 2015 yılları arasında kasıtlı olarak loperamidin tıbbi olmayan kullanımında, %91'lik bir artış olmuştur. Çoklu vaka raporları ile beraber artan loperamidin kötüye kullanım oranı; FDA'yı, loperamidin kötüye kullanımından kaynaklı ciddi kardiyak olaylara ilişkin 7 Haziran 2016 tarihli uyarı yayınlaması için teşvik etmiştir. Bu kardiyak olayların çoğu opioid yoksunluğunun kendi kendine tedavisi için veya arzulanan öfori hissi hedefine ulaşmak için, kasıtlı olarak yüksek dozlarda kullanan kişilerde meydana gelmiştir. Son zamanlarda; loperamid kötüye kullanımı ile ilişkili dramatik QT uzaması, geniş kompleks taşikardiler, polimorfik VT (PMVT) ve ani kardiyak ölüm ile ilgili çok sayıda rapor açıklanmıştır (16).

2.1.2 Loperamidin Kimyasal Yapısı

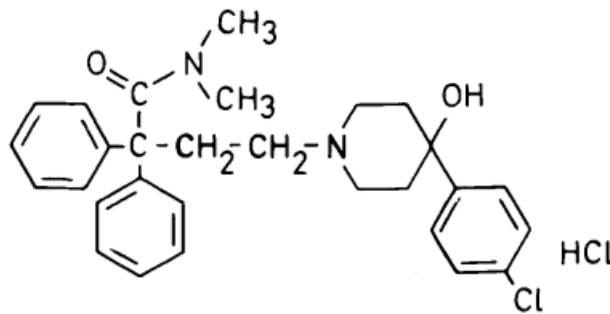
1956 yılı, Belçika Beerse'deki Janssen Araştırma Laboratuvarlarında; ilk sentetik ishal önleyici ilacın keşfine işaret eder. Difenoksilat, ratları ishalden en az 8 saat koruyan ilk ilaç olarak bulunmuştur. Aynı dozda, opioid benzeri SSS etkileri oluşturmadan bu etkisini gösterir (17).

Daha güçlü, daha uzun süre etkili ve en önemlisi daha spesifik olan ishal önleyici ajanları belirlemek için, binlerce yeni difenoksilat türevidir; Janssen Araştırma Laboratuvarlarında, 1956 ile 1969 yılları arasında sistematik olarak araştırılmıştır. Yeni bir ap-difenil bütiramid türevleri, 1969'da test edilmiştir ve özellikle loperamid, olağan dışı potansiyel göstermiştir (17). Loperamid, difenoksilat ve haloperidola benzer kimyasal yapıya sahip bir fenilpiperidin

türevidir (16). Loperamidin difenoksilattan daha güçlü ve daha uzun etkili olduğu bulunmuştur (17).

Imodium olarak pazarlanan loperamid; minimum düzeyde yan etkileri olan ishal önleyici olarak yüksek tatmin düzeyine sahip bir ilaç olarak pazarlanmıştır. Üç aksiyon bölümünün, ishal önleyici etkilerinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. İlki; morfinin etkisinde olduğu gibi, gastrointestinal opioid reseptörlerinin blokajı nedeniyle peristaltik kontraksiyonu inhibe etmesidir. Loperamid için ikinci gastrointestinal etki mekanizmasının, kalmodulin inhibisyonu olduğu öne sürülmüştür. Loperamidin ishal önleyici etkileri; sıçanların kolon preparatlarında, ön hipofiz bezinden adrenokortikotropik hormonu salgılanmasında, ileumda klor salınımını uyarmasında, kalmodulin bağımlı fonksiyonları inhibe etmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (18).

Loperamidin antidiyareik aktivitesindeki üçüncü bir mekanizma, voltaja bağlı kalsiyum kanallarının inhibisyonudur. Loperamid mikromol altı konsantrasyonlarda L-tipi kalsiyum kanallarını bloke eder. Loperamidin salgı önleyici özellikleri, kısmen kalsiyum kanallarının blokajına bağlı olabilir. Yüksek mikromolar konsantrasyonlarda loperamid, nöronal voltaja bağlı kalsiyum kanallarını bloke eder. Lokal olarak uygulanan loperamid, birkaç inflamatuvar ağrı modelinde güçlü antinosiseptif aktiviteye sahiptir. Loperamidin bu tür periferik antinosiseptif etkileri; opioid antagonistlerinin blokajına morfinden daha az duyarlı olmasına rağmen, yerel opioid reseptörlerinin aracılığı ile ortaya çıktığı anlaşılmıştır (18).



Şekil 2.1. Loperamidin Kimyasal Yapısı (17).

Loperamid oral olarak alındığında, <2%’lik bir biyoyararlanım ile emilemez olarak kabul edilir ve böylece sistemik dolaşıma yalnızca minimum miktarlar ulaşır. Artan plazma konsantrasyonları elde edilmiş olsa bile ilaç, SSS’den atılımı sağlayan Adenozin Trifosfat (ATP) bağımlı membran taşıyıcısı P-glikoprotein

için bir substrattır. Konjuge olduğu ve safra asitleri ile atıldığı, karaciğerdeki sitokrom P450 (esas olarak CYP3A4) tarafından tamamen metabolize olur. Loperamidin yarı ömrü yaklaşık 11 saattir ve en yüksek konsantrasyona ulaşma zamanı yaklaşık 2,5 ila 5 saat arasındır. Yine de sağlıklı gönüllülerde önerilen maksimum doz olan 16 mg ile 40,9 saate varan yarı ömürler bildirilmiştir. Bu dozda, loperamid etkileri bağırsakla sınırlıdır. Bununla birlikte, daha yüksek dozlarda SSS etkileri olabileceği görülmektedir. Bu durum, loperamidin kan beyin bariyerine ulaşmasına ve merkezi opioid reseptörlerini aktive ederek öfori ve analjeziye yol açmasına neden olan P-glikoprotein taşıyıcılarının doygunluğuna bağlanabilir. Ayrıca, P-glikoproteinin loperamide, gastrointestinal sistem içinde tolerans gelişmesine katkı sağladığı gösterilmiştir (16).

P-glikoprotein esas olarak bağırsak dokusunda ve kan beyin bariyerinde aktif olan bir taşıyıcı proteindir. Normal fizyolojik ortamlarda P-glikoprotein; loperamidi, beyindeki damar sistemini lümene kadar kaplayan endotel hücrelerinin sitozolünden etkili bir şekilde dışarı akıtabilir, böylece ilacın beyne erişimini önler. Bununla birlikte loperamidin aşırı dozları; SSS aktivitesini, P-glikoproteinin doygunluğa ulaşmasıyla ilacın intraserebral absorpsiyona izin vererek öfori gibi SSS etkilerini kolaylaştırarak gösterir (19).

Loperamid karaciğerde sitokrom P450 protein ailesindeki enzimler tarafından N-demetilasyon yoluyla metabolize edilir. Loperamidin başlıca metaboliti, aktif olmayan desmetiloperamiddir ve daha fazla N-demetilasyona uğrayarak didesmetiloperamide dönüşebilir (19). Desmetiloperamid, sıklıkla loperamidin iki katı daha fazla plazma konsantrasyonlarına ulaşır (20).

Loperamidin yaklaşık %50'si bu metabolitlerin inaktif glukuronidlerine metabolize edilirken, %40'ı dışkı ve idrardaki metabolitler ve değişmemiş ilaç olarak atılır (21).

Desmetiloperamidin düşük konsantrasyonlarda, loperamide benzer bir P-glikoprotein substratı gibi davrandığı gösterilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda, P-glikoprotein inhibitörü olarak bir substrat görevi gördüğü gösterilmiştir (22).

2.1.3 Loperamidin Yan Etkileri ve Toksisitesi

Loperamid; terapötik dozlarda alındığında, güvenli ve reçetesiz bir ishal önleyici ilaçtır ama büyük miktarlarda alındığında veya farmakokinetiğini değiştiren ilaçlarla birlikte alındığında, SSS'de opioid etkiler gösterir. Bunlar;

öfori, SSS depresyonu, miyozis ve solunum depresyonunu içerir (4). Terapötik dozlarda loperamide, minimal SSS aktivitesine sahiptir çünkü ilk geçiş metabolizması, oral biyoyararlanımını sınırlar ve p-glikoprotein tarafından atılımı, SSS penetrasyonu sınırlar (23). Bununla birlikte, supratherapötik dozlama veya farmakokinetik manipölasyon varlığında, loperamid SSS μ -opioid reseptörlerine ulaşabilir ve opioid etkiler gösterebilir. ATP'ye bağımlı bir ilaç pompası olan P-glikoprotein, loperamidi bağırsak lümenine ve safra içine atarak SSS'den ilacı uzaklaştırır (22).

Loperamidin p-glikoprotein inhibitörleri ile birlikte kullanımı, loperamidin SSS aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (20). Ek olarak, muhtemelen gelişimsel P-glikoprotein fonksiyonunun olmamasından kaynaklı SSS depresyonu, solunum depresyonu ve bebeklerde yutulmayı takiben ölümler gibi vakalar olmuştur (24).

Yüksek doz loperamide; ilk kez, bireylerin yaklaşık %70'inin opioid yoksunluğunu tedavi etmek ve %25'inin öforik etkileri için kullandığını, çevrimiçi forumlarda 2005 gibi erken bir tarihte bildirmiştir (25).

2010 ve 2015 yılları arasında; Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Zehir Veri Sistemi'ne (NPDS) bildirilen loperamid maruziyet çağrılarında, %91 oranında artış olmuştur. 2010 yılından bu yana çok sayıda; yüksek doz loperamid kullanımına ilişkin vaka serileri ve takiben gelişen toksisite bildirimleri, tıbbi literatürde yayınlanmıştır (26).

1 Ocak 2012 - 30 Eylül 2018 tarihleri arasında NPDS, 6606 adet loperamide bağlı tek madde maruziyeti vakası bildirmiştir. Maruziyetlerin çoğunun, düşünülmeden olduğu (%69, n=4574) ve çoğunun hiçbir etki görülmeden veya küçük yan etkiler görülerek (%77, n=5062) sonuçlandığı raporlanmıştır. Loperamid maruziyeti vakalarının sayısında; kasıtlı "yanlış kullanım" veya "kötüye kullanım" 2012'de 92 vakadan, 2017'de 272 vakaya yükselerek artış gösterdiği bildirilmiştir. Bu zaman diliminde, 2018'deki 6 ölüm de dahil olmak üzere 18 ölüm bildirilmiştir (4).

Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği Ulusal Zehir Veri Sistemi Kılavuzunda; bazı hastalar maruz kalmanın bir sonucu olarak, bazı minör yan etkiler sergilemiştir ancak bunlar, hasta için çok az rahatsız edici olmuştur. Bu semptomlar hızla düzelerek hastalar, maruziyet öncesi iyi olma durumuna geri dönmüştür. Bulgulardan bazıları, hafif derecede gastrointestinal belirtiler ve hipotansiyon olmadan sinüs taşikardisi gelişmesidir. Orta derece yan etkiler olarak

hastalar; maruz kalmanın bir sonucu olarak minör yan etkilerden daha belirgin, daha uzun süreli ve daha sistematik etkisi olan semptomlar sergilemiştir. Bunlardan bazıları: asit-baz bozukluğu, oryantasyon bozukluğu, tedaviye yanıt veren hipotansiyon ve kendiliğinden düzelen veya tedaviye hemen yanıt veren tek nöbet şeklindedir. Major yan etkiler olarak hastalar, maruz kalmanın bir sonucu olarak yaşamı tehdit eden semptomlar sergilemiştir. Bunlar: tekrarlanan nöbetler, VT, kardiyovasküler instabilite, kalbin veya solunumun durması, ventriküler fibrilasyon (VF) ve bilinçsizlik gibi hayatı tehdit eden bulgulardır. Bazı hastalarda, maruz kalmanın bir sonucu olarak veya doğrudan maruziyetin komplikasyonu olarak ölüm gelişmiştir (4).

Loperamid toksisitesi yalnızca opioid etkileri ile karakterize edilmez. Son zamanlarda; bazıları ölümcül olan çok sayıda ciddi kardiyak aritmiler ortaya çıkmıştır (1). Wu ve arkadaşları; PubMed'de veritabanı kullanılarak başlangıçtan 5 Nisan 2017'ye kadar, "loperamid ve toksisite", "loperamid ve kardiyak", "loperamid ve kötüye kullanım" ve "loperamid ve aşırı doz" terimleri kullanılarak ilgili referansların manuel olarak gözden geçirilmesinin yanı sıra, bildirilen tüm loperamid maruziyeti ve toksisite vakalarını tanımlayan literatür taraması yapmıştır. Bugüne kadar; 20'den fazla loperamid kardiyak toksisitesi ile ilgili bireysel vaka raporu yayınlanmıştır. FDA; Yan Etki Raporlama Sisteminin son soruşturmasında, loperamid ilişkili 48 ciddi kardiyak olay vakası raporlamıştır. Bu raporlar; tipik olarak bilinç düzeyi azalmış veya belirgin anormal elektrokardiyografi (EKG) sonuçları ile ilişki, tekrarlayan senkopla gelen genç hastaları tanımlamıştır (26). Ek olarak, ölüm sonrası loperamid plazma konsantrasyonları artmış olarak bulunan 22 vaka daha görülmüştür. Bu hastaların, loperamidin tetiklediği solunum depresyonu veya kardiyak toksisiteye bağlı ölüm ölmediği bilinmemektedir (27). Yayınlanmış loperamid kardiyotoksisite vakaları ilacın, 100 ila 800mg/gün arasında değişen dozların kronik alımını içerir (28).

Üç hasta bildirimi dışında; nabızsız elektriksel aktivite veya asistoli geliştikten sonra ölen tüm vakalarda, genişlemiş QRS aralığı anormallikleri (200ms'ye kadar), uzun QT aralığı (704 ms'ye kadar) ve monomorfik veya polimorfik VT (MMVT, PMVT) dahil gelişen tüm ventriküler aritmileri içeren çarpıcı EKG anormallikleri saptanmıştır (29).

Yüksek doz loperamidin kardiyak potasyum (K^+) ve sodyum kanalları (Na^+) blokaj yeteneği, EKG anormallikleri ve aritmiler için temel oluşturur. Bu kanalları

bloke etmek için gereken konsantrasyonlara standart dozlarda ulaşamaz. Fakat; loperamid doz aşımı olan hastalarda, özellikle eş zamanlı P-glikoprotein veya CYP3A4 inhibisyonu yaparak, yeterince yüksek konsantrasyonlara ulaşılır (30).

2.1.4 Loperamid Kardiyotoksitesisi İyon Kanalları Üzerine Etkisi

Son zamanlarda çok sayıda, uyuşturucuların yerine ikame edilmesinden veya opiat yoksunluk semptomlarını azaltmak için kullanılmasından kaynaklanan kasıtlı loperamid doz aşımı vakası ortaya çıkmıştır (31). Ulusal Zehir Veri Sistemine bildirilen artan maruziyet sayısı ile birlikte, loperamid maruziyetiyle ilgili kardiyak sorunlarda da önemli bir artış olmuştur (32). Supraterapötik dozlarda loperamid riskleri; sadece SSS ve solunum depresyonu gibi μ -opioid agonist etkilerinden değil, aynı zamanda artan ventriküler aritmiler ve iletim gecikmelerinden de kaynaklıdır (33). Vakalar QRS ve QT intervali uzaması, TdP ve ani kardiyak ölüm dahil olmak üzere anormal EKG gelişimini tanımlar (31).

Doz aşımı vakalarında, kan/serum loperamid seviyelerinin; terapötik dozlarla elde edilenin, 10 ila 1000 katı olduğu ölçülmüştür (34). Loperamidin yarı ömrünün 10,8 saat olduğu ve aşırı dozda alınmasının; gastrointestinal sistemi önemli ölçüde yavaşlatarak emilim süresini daha da uzattığı ve etkili biyoyararlanımı arttırdığı hesaba katılırsa, hastalarda bildirilen doruk dolaşım seviyelerinin klinik çalışmalarda belgelenenden bile daha yüksek olması muhtemeldir. Pazarlama sonrası raporları ve literatürü gözden geçirdikten sonra FDA, 7 Haziran 2016 tarihli ilaç güvenliği raporu yayınlamıştır ve Kasım 2016'da yüksek doz loperamid ile ilgili ciddi kalp sorunları hakkında uyarı içeren ürün etiketi değişikliği yapmıştır (31).

Şu anda loperamide bağlı kardiyotoksitenin altta yatan hücresel mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Birkaç çalışma; loperamidin kardiyak aksiyon potansiyeli (AP) sırasında, membran repolarizasyonu ve hızlı depolarizasyon için önemli olan kardiyak hERG (KV11.1) kanallarını ve NaV1.5 kanallarını bloke ettiğini yayınlamıştır. Bu sonuçlar, loperamidin doğrudan kardiyak uyarılabilirliğini bozduğunu öngörür. İki nedenden dolayı ilacın ne kadar tehlikeli olabileceği hala belirsizliğini korur. İlk olarak; farklı bağlanma ve ayrışma kinetikleri ile farklı proaritmi riski seviyelerine sahip olduğundan hERG kanal blokerleri, karşılaştırılabilir potansiyele sahiptir ve şu anda loperamid ve

hERG'nin kanal etkileşimi dinamikleri hakkında yeterli bilgi yoktur. İkincisi; loperamidin hem dışa dönük hERG akımını hem de içe dönük hızlı NaV akımını bloke etmesi, proaritmi risk değerlendirmesi için sistemik serbest ilaç düzeyinin ölçülmesi ihtiyacını doğurur (31).

Bu K^+ kanallarının; özellikle loperamidin hERG kanalının çok yüksek afiniteli inhibisyonu, miyosit zar potansiyelini repolarize eden gecikmeli doğrultucu akımının hızlı bileşeninde bir gecikmeye neden olur (35). Uzayan repolarizasyon fazı; muhtemelen hastalarda erken art depolarizasyon durumlarında TdP gelişmesine yatkın hale getirir (33). Ayrıca vaka raporları, supratherapötik loperamid alımları ile EKG'de Brugada paternleri arasındaki ilişkiyi de tanımlamıştır (36). Nav1.5 kanalı, kardiyak AP'nin hızlı yukarı vuruşuna katkıda bulunur. Bu kanalın engellenmesi elektriksel kalp iletimini bozarak QRS aralığının uzamasına neden olur. Muhtemelen loperamidin bu Na^+ kanalı inhibisyon mekanizması; Brugada paternlerinin oluşmasını ve supratherapötik loperamid alımlarında, ani kardiyak ölüm riskinin artmasına katkı sağlamasını açıklayabilir (33).

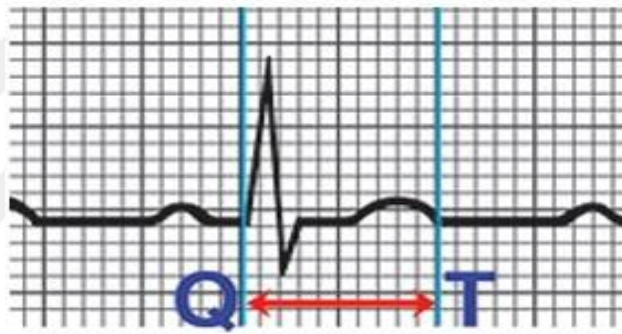
2.1.5 Loperamidin Kardiyak Toksisitesinde Görülen Aritmiler ve Tedaviye Yaklaşım

Yapılan araştırmalar sonucu yüksek doz loperamide bağlı; uzamış QT, VT, VF, TdP, geniş kompleks taşikardi ve hatta ani kardiyak ölüm de dahil olmak üzere çoklu iletim anormallikleri bildirilmiştir (5).

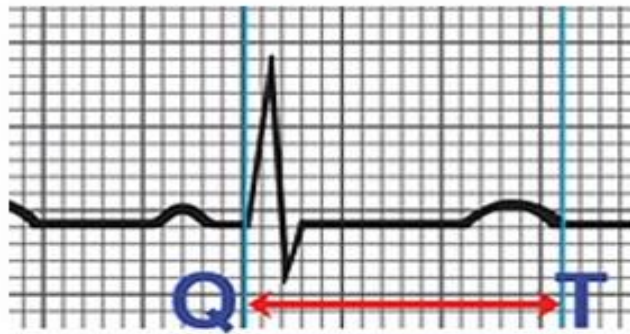
Loperamidin proaritmik etkilerinin altında yatan mekanizmalar büyük ihtimalle kalp hücrelerindeki Na^+/K^+ transmembran iyon kanalları inhibisyonu ile ilişkilidir. (16). Ayrıca hERG kanalı, düşük hücre dışı K^+ seviyelerine ilaç bağlanması kadar duyarlıdır; bunların her ikisi de azalmış kanal fonksiyonuna ve edinilmiş veya ilaca bağlı uzun QT sendromuna (LQTS) yol açar. Böylece bireylerde; polimorfik VT ve ani kardiyak ölüme yol açan VF gelişimi riskini oluşturur (37).

QT Aralığı Uzaması

Amerikan Kalp Derneği (AHA) ve Amerikan Kardiyoloji Vakfı (ACCF)'ye göre; uzamış QT aralığı, %99 dilimine göre düzeltilmiş QT (QTc) aralığına göre kadınlar için 480ms ve erkekler için 470ms'nin üzerinde olması olarak tanımlanır. Ancak birçok standart EKG hala 440ms'lik bir QTc aralığını, sınırda QTc aralığı uzaması olarak etiketlemeye devam etmektedir (38). Uzamış QTc aralığı, ventriküler AP'nin repolarizasyon fazının uzamasını temsil eder (39). EKG'de uzamış QTc, uzamış ventriküler repolarizasyonun bir göstergesidir ve TdP riskini artırarak ani kalp ölümüne neden olabilir (40). Uzamış repolarizasyon, kardiyak miyositlerdeki çeşitli Na^+ ve K^+ kanalı alt tipleri aracılığıyla gerçekleşebilir. En yaygın olarak; kazanılmış repolarizasyon süresinin uzaması, gecikmiş doğrultucu K^+ akımının hızlı bileşeninin inhibisyonu tarafından tetiklenir (39).



Şekil 2.2. Normal EKG'de QT Aralığı.



Şekil 2.3. Uzun QT Aralığı.

Uzun QT Sendromu

LQTS, EKG’de QT uzaması ve T dalga anormallikleri ile karakterize edilen heterojen bir kardiyak elektrofizyolojik bozukluk ailesini temsil eder (41). Bu genetik kanalopati; etkilenen bireylerin senkop, TdP ve ani aritmiye bağlı ölüm risklerini artırma eğiliminde olup, değişken penetransa sahiptir (42).

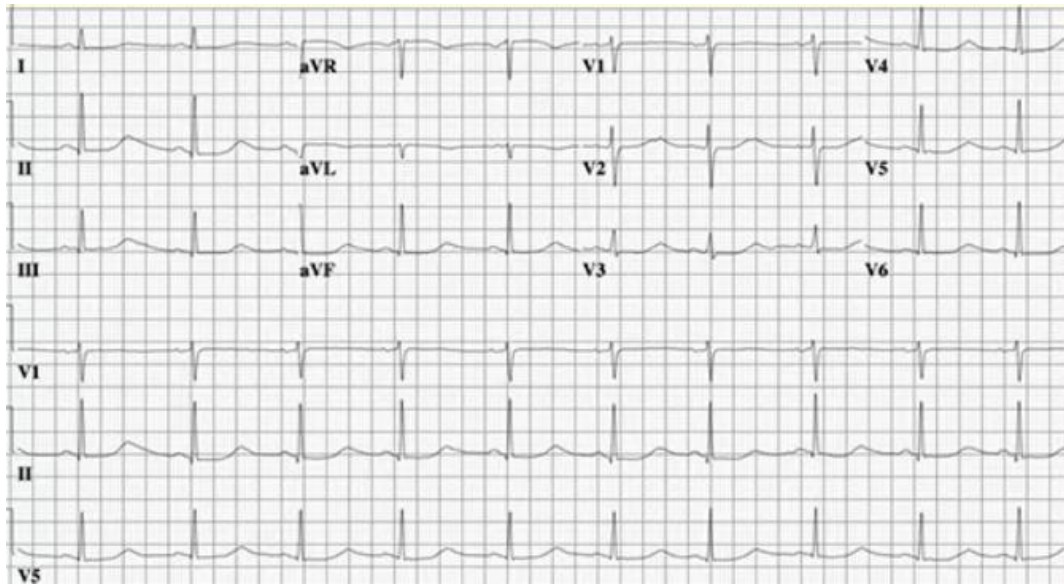
LQTS geliştirme olasılığı; yaş, elektrolit anormallikleri, ilaçlar, diyabetes mellitus ve epilepsi gibi tıbbi durumları içeren çeşitli faktörlerle ilişkilidir (43).

LQTS teşhisi klinik olarak konulur ve klinik bulgular, aile öyküsü ve EKG özellikleri temelinde bireylerde LQTS’den şüphelenilmelidir. En yaygın olarak, hastalar bayılma ve baş dönmesi şikâyeti ile başvururlar. Diğer belirtiler arasında, çarpıntı ve nöbetler de bulunur. Bayılma, genellikle uyarı olmaksızın ani ve beklenmedik bir şekilde meydana gelir. Bu nedenle presenkop ve diğer uyarı belirtilerinin olduğu vazovagal ve ortostatik bayılma formlarından farklıdır (41).

LQTS’de, EKG tanı için kritik öneme sahiptir. Özel bulgular arasında; 12 derivasyonlu bir EKG’nin II. Derivasyonunda, QRS kompleksinin başlangıcından T dalgasının sonuna kadar olan QT aralığının uzaması yer alır (41).

QTc ayrıca hesaplanabilir ($QTc = QT \text{ aralığı} + RR \text{ aralığının karekökü}$). Bir QTc; kadınlarda 0,47 saniyeyi, erkeklerde ise 0,45 saniyeyi aşarsa, uzamış kabul edilir. QTc aralığı, LQTS teşhisinde bize yardımcı olabilir (44).

Beta blokerler, hem semptomsuz hem de semptomatik LQTS’nin tedavi ve yönetiminde ilk tercih edilen ilaçlardır (41).



Şekil 2.4. Uzun QT Sendromu Vakası EKG Örneği.

Ventriküler Taşikardi

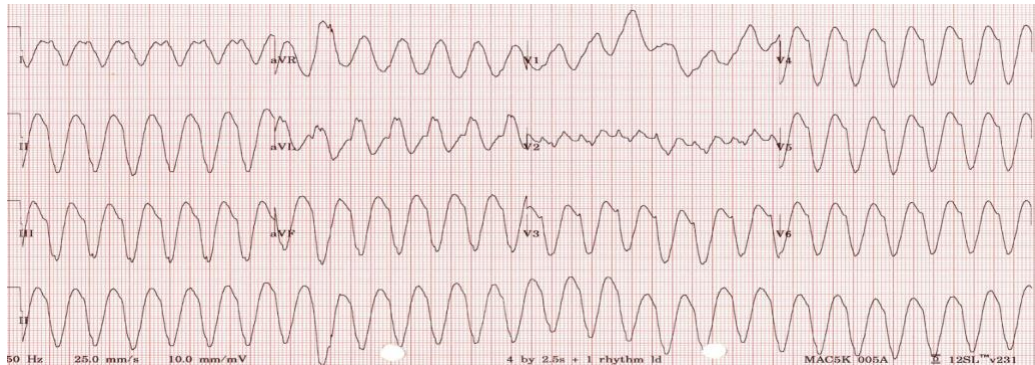
VT, tıbbi uygulamada sıkça görülen bir durumdur. VT tamamen zararsız olabilir veya ani kalp ölümü için yüksek risk anlamına gelebilir. Bu nedenle; klinik olarak karşılaşıldığında, klinisyenlerin VT'yi tanımak ve yönetmek konusunda aşina olmaları ve hızlı bir şekilde müdahale etmeleri son derece önemlidir (45).

Prematür ventriküler kompleksler (PVC'ler); atrioventriküler (AV) düğümün altından köken alan herhangi bir kalp ritmini ifade eder, tek bir kompleks veya ardışık çoklu kompleks olup olmadığı fark etmez. Bu kompleksler, ventriküler miyositlerden veya His-Purkinje dokusundan kaynaklanabilir. Dakikada 100 atımdan daha hızlı bir hızda, ardışık olarak 3'ten fazla PVC'nin olduğu duruma VT denir. Dakikada 100 atımdan daha az bir hızda, ardışık olarak 3'ten fazla PVC'nin olduğu duruma hızlanmış idiyoventriküler ritim denir (45).



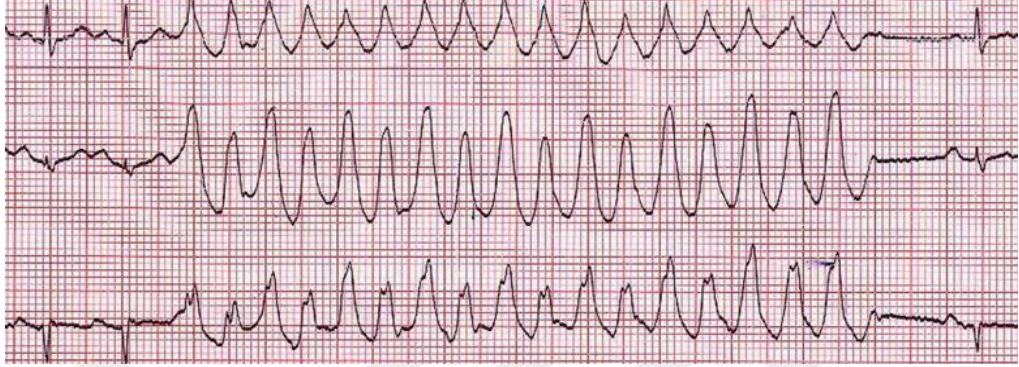
Şekil 2.5. Prematür Ventriküler Kompleksler (PVC) EKG Örneği.

MMVT; her atışın telemetri veya EKG izlemlerinde bir sonrakiyle aynı şekilde görüldüğü, QRS görüntüsünün aynı olduğu VT'yi ifade eder (45).



Şekil 2.6. Monomorfik Ventriküler Taşikardi (MMVT).

PMVT ise; aynı izlemdeki bitişik atımlar arasında, farklı QRS morfolojisine sahip VT'yi tanımlar. VT; hemodinamik instabiliteyle ilişkili olduğunda veya 30 saniyeden daha uzun sürdüğünde, sürdürülen (sustained) VT olarak adlandırılır (46,47).



Şekil 2.7. Polimorfik Ventriküler Taşikardi (PMVT) EKG Örneği.

MMVT'nin üç temel mekanizması vardır: anormal otomatisite, tetiklenmiş aktivite ve reentry (48,49). Hızlanmış idioventriküler ritim, anormal otomatik mekanizmanın özgü formudur ve akut miyokard enfarktüsü sonrası reperfüzyon ortamında sıklıkla görülür (50).

İdiyopatik VT ve PVC'ler için farmakolojik tedavi, kalsiyum kanal blokerleri ve beta blokerlerin kullanımını içerir. Bu ilaçlar bazen aritmileri baskılayabilir ve semptom kontrolü sağlayabilir (51). İdiyopatik VT'nin kateter tabanlı radyofrekans ablasyonu, %80 ila %100 arasında değişen bir başarı oranıyla güvenli ve etkili olduğu kanıtlanmıştır (52).

Sürdürülen MMVT'nin akut tedavisi, hemodinamik stabiliteye odaklanır ve VT'nin sonlandırılmasına yöneliktir(53). Stabil olmayan hastalar,kardiyopulmoner resüsitasyona (CPR) tabi tutulmalı ve doğrudan akım kardiyoversiyon ile aritmilerinin sonlandırılması sağlanmalıdır (54).

Lidokain, akut miyokard enfarktüsü durumunda, MMVT'yi sonlandırmada özellikle etkilidir (55). Amiodaron, akut sürdürülen MMVT tedavisinde lidokainden daha etkilidir. Ancak, amiodaron ile aritminin sonlandırılması bir saate kadar sürebilir (56).

Ventriküler Fibrilasyon

VF, toplumda ve klinik uygulamada önemli bir sağlık sorunudur. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde; yaklaşık olarak her yıl 300.000 hastanın VF nedeniyle aniden öldüğü tahmin edilmektedir (57). VF sırasında, ventriküler kasılmalar düzensizdir ve etkili sistolik gerilim oluşturmaz. Sonuç olarak; arteriyel basınç aniden çok düşük seviyelere düşer ve hayati organlara oksijen taşınamaması nedeniyle genellikle ölüm, on dakikadan daha kısa bir süre içinde meydana gelir (58).

EKG'de VF teşhisi; ventriküler elektriksel komplekslerde, periyodik olmayan ve düzensiz, atımdan atıma değişimlerin görülmesiyle konulur. Bu nedenle EKG'nin bu bulgularının; VF'nin, üç boyutlu ventriküler kasın aktifleşmesinin son derece heterojen ve karmaşık olduğu fikrini akla getirdiği söylenebilir. Bu durum VF'nin, tamamen rastgele ve düzensiz bir aktifleşmenin sonucu olduğu kanısına yol açmıştır (58).



Şekil 2.8. Ventriküler Fibrilasyon (VF) EKG Örneği.

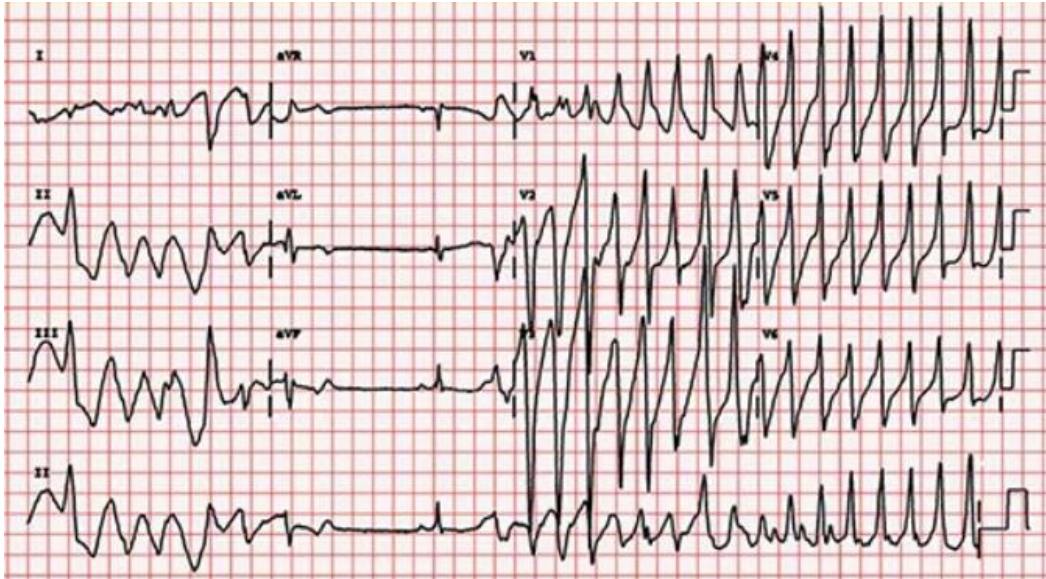
Tanı konulduktan sonra, VF'nin tedavisi zor olabilir. Implante edilebilir kardiyoverter-defibrilatörler (ICD), VF tedavisinin temel dayanağı olarak kalmaktadır ancak episodların ortaya çıkmasını engellemez (59). Antiaritmik ilaçlar, aritmilerin önlenmesi için temel müdahaledir ancak; VF tıbbi tedaviye yanıt vermeyebilir ve yanıt vermeyenler gelecekteki aritmiler için yüksek risk altında olmaya devam eder. Ayrıca; VF geçirdikten sonra sağ kalanların, kötü bir sonuçla karşılaşması ve hastaneden taburculukta düşük bir sağkalım oranına sahip

olması gibi sorunları devam eder. Bu kötü sonuçların bir kısmı, VF için yüksek etkinliğe sahip tıbbi tedavilerin ve aritmiyi sürdüren mekanizmalara yönelik yaygın olarak bulunan tedavilerin eksikliğinden kaynaklanmaktadır (60).

Torsades de Pointes

TdP, taşikardi ile fibrilasyon arasında yer alan bir ventriküler aritmiden oluşur ve bradikardiye bağımlı olduğu düşünülür. Çoğu durumda TdP, birkaç saniye sonra kendiliğinden düzelir (61). Bu nadir görülen aritmi, karakteristik olarak kendiliğinden sonlanan patlamalar halinde ortaya çıkar. Baş dönmesi veya bayılma ve bazen nöbetlere neden olabilir, ancak nadiren VF'ye dönüşerek ani kardiyak ölüme yol açabilir (62).

TdP, gecikmiş ventriküler repolarizasyonla ilişkili olarak erken after depolarizasyonlar (EAD) nedeniyle tetiklenen aktivite ile ortaya çıkar. İlaç kaynaklı gecikmiş repolarizasyon, genellikle düzeltici K^+ kanallarının blokajı nedeniyle ortaya çıkar ve 12 derivasyonlu EKG'de QT süresinin uzamasıyla yansıtılır. Bu uzama neredeyse her zaman TdP'den önce gelir. EAD'ler; ventriküler depolarizasyonun uzamasının bir sonucu olarak gerçekleşen, voltaj kapılı kalsiyum kanallarının gecikmiş inaktivasyonu nedeniyle, geciken kalsiyum girişi sonucunda meydana gelir (62).



Şekil 2.9. Torsades de Pointes (TdP) EKG Örneği.

Magnezyum sülfat, şu anda TdP'nin ilk basamak tedavisi olarak önerilmektedir (62). Faydasının mekanizması belirsiz olsa da magnezyum; gecikmiş ventriküler repolarizasyonla ilişkili olan L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla, geç kalsiyum girişini inhibe ederek EAD'lerin amplitüdünü azaltabilir (38).

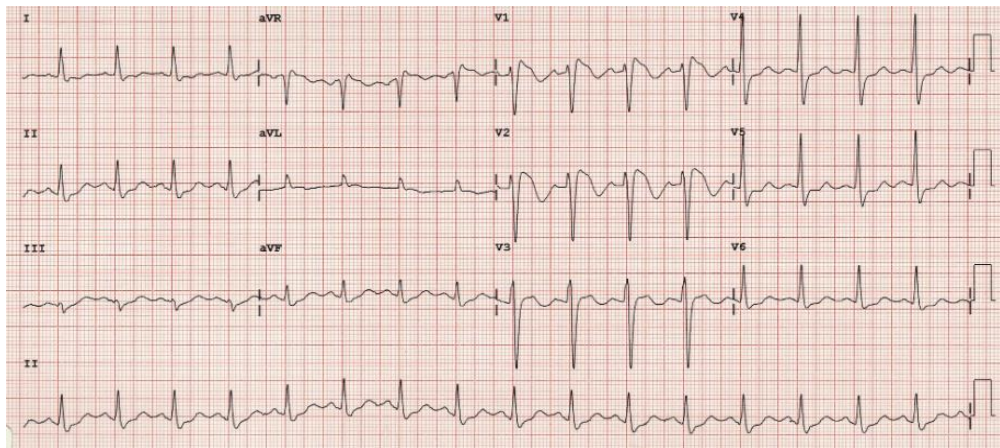
İsoproterenol, seçici olmayan β_1/β_2 -adrenoreseptör agonist etkileri nedeniyle kalp hızını artırır. Bu, QT aralığını ve etkili refrakter periyodu kısaltır (62). İsoproterenol kullanımının TdP için; insanlarda randomize kontrollü çalışmaları bulunmamaktadır. Ancak bazı vaka raporları, zaman zaman fayda gösterdiğini önermektedir (63).

Transvenöz kalp pili uygulaması; kalp hızını artırır, duraklamaları önler ve TdP ataklarını baskılayabilir veya ortadan kaldırabilir. İnsanlarda yapılan vaka raporlarında; magnezyum sülfata yanıt vermeyen hastalar da dahil olmak üzere kinidin, disopiramid, sotalol veya amitriptilin tarafından indüklenen TdP'nin tedavisinde kalp pili uygulaması, faydalarından dolayı önerilmiştir (62).

Brugada Sendromu ve Brugada Paternleri

Brugada sendromu (BrS); iskemi, kardit, doğumsal kalp hastalıkları ve elektrolit dengesizliği olmaksızın, gen mutasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkan kalıtsal bir kalp bozukluğu olarak tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar; ateş, vagal tonus, ilaçlar ve alkol gibi etkenlerle tetiklenebilir ve çarpıntı, senkop, malign taşikardi ve ani kardiyak ölüme yol açabilir (64).

Sağ prekordiyal derivasyonlarda, çukur şekilli ST segment yükselmesi ile karakterizedir ve yapısal olarak normal kalpte ani kardiyak ölüm riski artmıştır (65).



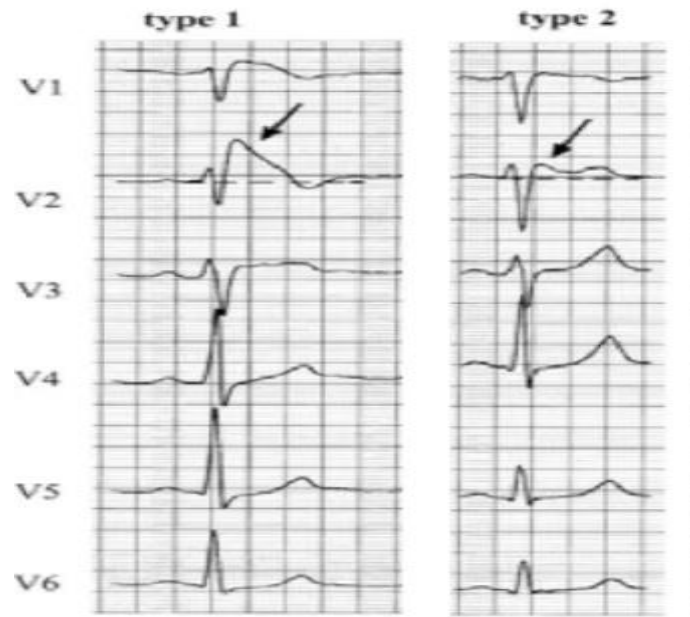
Şekil 2.10. Brugada Sendromu (BrS) EKG Örneği.

BrS ile ilişkili 20 gen bulunmaktadır. Bunlar; Na⁺, K⁺ ve kalsiyum kanallarını kodlayan ve iyon kanallarını etkileyen proteinleri içerir. Bugüne kadar, SCN5A geni hala BrS'nin başlıca nedeni olarak kabul edilmektedir (66).

Hiperkalemi, hipokalemi ve toksisiteler gibi metabolik bozukluklarla iskemi, perikardit ve birçok diğer neden gibi heterojen koşullar; Brugada paternlerini indükleyebilir (64). Bu durumlar, Brugada fenotipi (BrP) olarak tanımlanmıştır (67). BrP'nin tanımlanması önemlidir; çünkü bunlar geri dönüşümlü nedenler olarak tedavi edilebilirler, böylece invaziv tedaviden kaçınılabilir ve hastaların yaşam kalitesi artırılabilir (64).

BrP, farklı etyolojiye sahip Brugada paterni (tip 1 ve tip 2) ile karakterize olan klinik durumlardır. Etiyolojiler; iskemi, miyokard ve perikard hastalığı, mekanik kompresyon, EKG modülasyonu ve anemi gibi metabolik durumlarda farklılıklar gösterebilir (68).

Brugada Tip 1 paternde; V1-V2'de çukur şeklinde yüksek ST segment yükselmesi ($\geq 2\text{mm}$) ile başlayan ve onu takip eden simetrik negatif T dalgası şeklinde görülür. Buna karşılık, Brugada Tip 2 paternde "atlı eyer" morfolojisi; izoelektrik hattan en az 2mm yükseklikte olan yüksek r' dalgasını içerir. Ardından, izoelektrik hattan en az 0.05milivolt (mV) yükseklikte konveks ST-segment yükselmesi ve V2 derivasyonunda pozitif veya düz T dalgası görülür (69).



Şekil 2.11. Brugada Tip1 ve Tip2 Patern EKG Örneği.

BrS tedavisinde, ventriküler aritmilerin ve ani kardiyak ölümün önlenmesi konusuna odaklanılır ve bu amaçla ICD kullanılır. ICD; belgelenmiş elektrofizyolojik sorunları olan hastalarda, ani kardiyak arrestten kurtulanlarda ve aile öyküsü olanlarda endikedir (70).

BrP'li hastalar; güçlü bir aile öyküsü olmadığında ve ventriküler aritmilere neden olan elektrofizyoloji çalışması olmadığında herhangi bir özel tedavi gerektirmez (70). ICD; ani kardiyak arrest geçiren hastalarda, ventriküler aritmileri sonlandırmada son derece güvenlidir ve yüksek etkinliğe sahiptir. Bu nedenle, tedavi düzeninin vazgeçilmez bir bileşenidir (71).

2.1.6 Loperamid Kardiyotoksitesi Olgu Sunumları

Olgu Sunumu 1

Hegde ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada yayınladığı vaka sunumunda; loperamid kullanımına ikincil PMVT ve kardiyojenik şok gösteren genç bir kadını ele almıştır. 25 yaşında kadın hasta, göreceli güçsüzlük ve çoklu bayılma atakları şikayetleri ile kardiyoloji kliniğine başvurmaktadır. Senkop atakları, günün farklı saatlerinde minimum fiziksel aktivite ile tetiklenerek başvurudan 12 ay önce başlamaktadır. Hastanın geçmiş tıbbi öyküsünde anksiyete, psikojenik nöbetler ve migren mevcuttur. Aile öyküsünde özellik yoktur. Dış hastane kliniğinde çekilen EKG'si birinci derece AV blok, atipik sağ dal bloğu ve Brugada benzeri patern gösteren sinüs ritmini göstermektedir. O sırada yapılan ekokardiyografide, önemli valvüler anormallikler olmadan normal sol ve sağ ventrikül boyutu ve fonksiyonunu göstermektedir (72).

Prosedürden sonraki gün, hasta sersemlikten şikâyet etmeye başlamaktadır ve kısa bir süre sonra hipotansif hale gelir. Epizod sırasında sorgulamadaki cihaz, yavaş ventrikül hızında VT'yi göstermektedir. Ekokardiyografi %40'lık bir sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (EF) ile biventriküler yetmezlik göstermektedir. Ciddi şekilde perikardiyal efüzyon olmadan sağ ventrikül fonksiyonu azalmıştır. Hasta, agresif resüsitatif çabalarına rağmen, vazopressör desteği gerektirecek şekilde kötüleşmeye devam etmiştir. Hasta entübe edilerek daha ileri yönetim için üçüncü basamak kardiyak yoğun bakım ünitesine transfer edilmiştir. Kardiyojenik şok için dobutamin başlanmıştır. Cihaz bazal hızı 90/dk'dan 70/dk'ya düştüğünde, cihaz sorgulaması TdP ritmini göstermektedir (72).

Dış merkezde başlanan sotalol kesilerek, aritmi kontrolü için intravenöz (iv) amiodaron (1mg/dk hızdan 150mg) ve magnezyum (15 dakikada 2g) başlanmıştır. Yatışının 6. gününde, hastanın klinik durumu kötüleşir ve inotropik ilaç gerektiren kardiyojenik şok sonrası kardiyak arrest gelişmiştir. Başlangıç ritmi nabızsız elektriksel aktivitedir, daha sonra senkronize kardiyoversiyon gerektiren MMVT ile sonuçlanmıştır. Spontan dolaşımın geri dönüşü sağlanmıştır. Daha fazla sorgulama üzerine; hastanın kötüleşmesinin belirsiz nedeni göz önüne alındığında, ailesi günde en az 2mg'lık 100-150 tablet loperamid aldığını açıklamıştır (72).

Yönetim, hem ventriküler aritimlerin hem de kardiyojenik şokun hızlı tedavisini içermektedir. TdP, iv magnezyum ve amiodaron ile tedavi edilmiştir. Ventriküler aritmiler için iv lidokain 1,5mg/kg dozda yüklenmiştir. Hastanın loperamid toksisitesi için güçlü klinik şüphesi olduğundan, intralipid emülsiyon tedavisi ile ampirik olarak tedavi kararı verilmiştir (72).

Olgu Sunumu 2

Lasoff ve arkadaşlarının yayınladığı bir olgu sunumunda; Opioit kötüye kullanım öyküsü olan 24 yaşındaki bir erkek, genel halsizlik şikayetiyle başvurmuştur ve hastada VT saptanmıştır. Hasta; reçetesiz satılan loperamid ve simetidin kombinasyonunu, günlük 400mg'ye kadar kullandığını belirtmiştir. Diğer taraftan; fizik muayenesi normaldir ve laboratuvar testlerinde (örneğin; normal elektrolit düzeyleri, hematokrit) dikkat çekici bir bulguya rastlanmamıştır. İdrar ilaç taraması ise amfetaminler, barbitüratlar, benzodiazepinler, kokain metaboliti, opiatlar ve oksikodon açısından negatif çıkmıştır (73).

Hasta kendiliğinden PMVT'ye dönüşmüş, bunun üzerine iv amiodaron bolusu uygulanıp ardından izoproterenol infüzyonuyla tedavi edilmiştir. Sodyum bikarbonatın birkaç iv bolusu da uygulanmış olup QRS kompleks genişliğinin daralmasıyla zamansal olarak ilişkilendirilmiştir. Hasta hemodinamik bozulma olmadan çeşitli ventriküler disritmiler yaşamaya devam etmiştir. Başvurudan yaklaşık 24 saat sonra hasta normal sinüs ritmine dönmüş olup, bu esnada QRS genişliği 146 ms ve QTc ise 544 ms'dir. Birkaç gün boyunca, QRS genişliği ve QTc, başka bir müdahale olmaksızın normale dönmüştür. Taburculuk öncesi yapılan bir sonraki EKG de normal bulunmuştur. Hasta, loperamidin kötüye kullanımının riskleri konusunda bilgilendirilip taburcu edildiğinde, loperamidi kötüye kullanımını azalttığını ve semptomsuz olduğunu bildirmiştir (73).

Loperamid ile ilişkili kardiyak toksisitenin optimal yönetimi net değildir. Şiddetli QTc uzaması vakalarında, aşırı hızlandırma stratejisiyle pacer (overdrive pacing) ve izoproterenol başarıyla kullanılmıştır (74). Defibrilasyon, elektriksel kardiyoversiyon, magnezyum, sodyum bikarbonat, çeşitli antiaritmik ilaçlar ve intralipidlerin kullanımı da sıklıkla tercih edilmiştir (75).

Olgu Sunumu 3

Katz ve arkadaşlarının yayınladığı olgu sunumunda; 39 yaşındaki bir kadın; depresyon, hepatit C ve madde kullanım bozukluğu gibi tıbbi geçmişe sahiptir ve essitalopram reçete edilmiştir. İş yerinde nöbet geçirdikten sonra ambulansla acil servise taşınmıştır. Bir gece önce, evde tuhaflik hissi ve sarsılmalar yaşayan iki atak geçirmiştir. Acil servise başvurduğu gün çalışma yerinde, hastanın üç kez gözlenen yaygın vücut sarsılmalarıyla ilişkili olarak aynı hissi yaşadığı ve bunlardan birinin idrar kaçırma ile beraber olduğu belirtilmiştir. Her bir ataktan sonra kendiliğinden uyanmaktadır. Acil serviste, hasta başlangıçta normal vital bulguları ve fizik muayenesi ile uyanık ve oryantedir. Hemşire ile görüşüp muayene edildikten sonra, kısa bir süreliğine tonik-klonik hareketlerle tepkisiz hale gelip kendiliğinden uyanmıştır. Hemen kardiyak monitöre bağlanmıştır ve bu monitör sinüs ritmi ve belirgin anormal aralıklar göstermektedir. EKG, 64 atım/dakika hızında, sağ aks sapması olan sinüs ritmindedir. PR aralığı 208 ms, QRS aralığı 142 ms ve QTc 687 ms olarak ölçülmüştür (76).

Hasta; bilinç kaybıyla birlikte eş zamanlı monitörde TdP'nin gözlemlendiği bir nöbet daha geçirmiştir. 2gr intravenöz magnezyum ve 100 miliekivalen (mEq) iv sodyum bikarbonat uygulanmıştır. Daha fazla soruşturulduğunda, hastanın günlük olarak loperamid kullandığını ve son zamanlarda günlük toplamda 50 ila 100 arası tablet aldığını kabul etmiştir. Tekrarlanan EKG'de QTc'de bir düzelme görülmemiştir ve kalp hızını 100 atım/dakika seviyesinde tutmak için iv izoproterenol uygulanmıştır. Bu infüzyonu aldıktan sonra, hasta artık TdP epizodları geçirmemiştir. Hasta, yoğun bakımda 4 gün boyunca iv izoproterenol infüzyonu ile tedavi edilmiştir ve hastanedeki 6. gününde TdP'nin tekrarlamaı olmadan sorunsuz bir şekilde taburcu edilmiştir (76).

Olgu Sunumu 4

Salama ve arkadaşlarının yayınladığı bir olgu sunumunda; uzun süreli çoklu madde bağımlılığı öyküsü olan, hastane dışında bilinmeyen süre içinde VF nedeniyle kardiyak arrest geçiren 38 yaşındaki bir kadın hastadan bahsedilmektedir (77).

Ailesi, eroin yoksunluk belirtilerini kontrol etmek amacıyla belirsiz bir süredir, günlük olarak iki kutu loperamid (144 tablet, 288mg) kullandığını bildirmiştir. Hasta, daha önce opioid yoksunluk belirtilerini hafifletmek için kodein ve suboksan kullanmıştır ancak artık bu tedavilere erişim sağlayamamaktadır. Çoklu madde bağımlılığı dışında, bilinen kronik bir tıbbi hastalığı olmayıp reçeteli ilaç kullanmamıştır. Ailesinde kalp ritim bozuklukları veya ani kardiyak ölüm hikayesi bulunmamaktadır. Hasta, İleri Kardiyak Yaşam Desteği (İKYD) protokolüne göre dışarıda başarılı bir şekilde defibrilasyon uygulanarak yeniden canlandırma (resüsitasyon) işlemi uygulanmış ve hava yolu kontrolü için entübe edilmiştir. Başlangıçta dış merkeze götürülmüştür ve ardından acil olarak üçüncü basamak bakım merkezine transfer edilmiştir. Dış merkezdeki hastanede, hipotermi protokolü kullanılmadığından başlatılamamıştır (77).

Varış anında çekilen EKG’de 58 atım/dk hızında QT ve QTc aralıkları uzamış olup, belirlenemeyen geniş kompleksli bir atriyal ritm görülmüştür. Acil koroner anjiyografi sonucunda koroner arterlerin normal olduğu belirlenmiştir. İdrar toksikoloji taramasının sonucu negatif çıkmıştır. Bölgesel zehir kontrol merkezi bilgilendirilmiş olup, tedavi olarak sodyum bikarbonat ve lipid infüzyonları önerilmiştir. Potasyum, magnezyum ve kalsiyum dahil olmak üzere elektrolitler, iv takviye ile normal sınırlar içinde tutulmuştur (77).

Bradikardi nedeniyle, hastaya izoproterenol başlanmıştır. Ertesi gün, telemetri cihazı çok geniş bir QRS için alarm vermiştir; ventriküler kalp durmasıyla sonuçlanan, EKG’de geniş kompleksli taşikardi saptanmıştır. Hasta, amiodaron uygulaması ve lidokain infüzyonuyla İKYD protokolüne uygun başarılı bir şekilde resüsite edilmiştir. Altı saat sonra nabız kaybı olmadan devam eden PMVT gelişmiştir. Bu durum, magnezyum takviyesine yanıt vererek kontrol altına alınmıştır. Geçici transvenöz bir pacer, aşırı hızlandırma stratejisiyle yerleştirilmiştir. Ancak bundan kısa bir süre sonra üçüncü kez VF’ye bağlı

kardiyak arresti gelişmiştir ve bu durum, İKYD protokolüne uygun olarak çoklu şoklarla (>10 kez) başarılı bir şekilde resüsite edilmiştir. Loperamid yan etkisinin 24-48 saat kadar süreceği beklenmektedir (77).

3.gününde, herhangi bir kalıcı nörolojik bozukluk olmaksızın entübasyonu sonlandırılmıştır. Hastanın pace ritmi düşürüldüğünde hala bradikardik seyretmiştir. İzoproterenol dozu azaltılmıştır. Beşinci gününde, dört kez 200 Joule şok ile yanıt veren bir başka VF epizodu daha geçirmiştir. Bradikardi nedeniyle geçici olarak izoproterenol infüzyonu tekrar başlatılmıştır. Altıncı gününde hastaneden taburcu edilmiştir. Ancak, 11. gününde, kendiliğinden sonlanan ve semptomları olmayan çoklu TdP atakları yaşamıştır. Bu ataklar nedeniyle yoğun bakıma tekrar yatırılıp olumlu sonuçlarıyla geçici önlemler (lidokain ve izoproterenol) tekrar başlatılmıştır. Hasta, tıbbi tavsiyeye rağmen birimi; yoğun bakımdan ayrılmakla tehdit etmiştir, bu nedenle TdP tedavisi verilirken tekrarlayan VF'ye bağlı kardiyak arrestin gelişmesini önlemek için Otomatik İmplant Edilebilir Kardiyoverter Defibrilatör (AICD) yerleştirilmiştir. Tekrarlanan EKG, QTc ve QT aralıklarında ilerleyici bir kısalma göstermiştir. AICD yerleştirilmesinden sonra hasta, yoğun bakımdan ayrılmak konusunda fikrini değiştirmiştir ve tıbbi stabilizasyonun ardından iki gün sonra taburcu edilmiştir (77).

Olgu Sunumu 5

Rojas ve arkadaşlarının yayınladığı bir olgu sunumunda; anksiyete ve çoklu ilaç bağımlılığı öyküsü olan 48 yaşındaki Kafkasyalı kadın, bayılma, çarpıntılar ve genel halsizlik şikayetiyle başvurmaktadır. Sistem incelemesi, aralıklı olarak 2 haftadır devam eden ishal öyküsünü ve bu durumda günlük olarak 6 ila 8 tablet loperamid kullandığını ortaya çıkarmıştır. Daha önce ne bir bayılma öyküsüne ne de ailesinde ani kardiyak ölüm hikayesine rastlanmamıştır. Muayenede, kan basıncı 137/81 mmHg, kalp atım hızı 68 atım/dk, vücut sıcaklığı 90°F (Fahrenheit), solunum hızı 17 soluk/dk ve oksijen satürasyonu (SpO2) değeri ise %95 olarak ölçülmüştür. Hasta kendindedir ancak uykuya meyilli görünmektedir. Kardiyovasküler muayenede düzenli kalp atım hızı ve ritim saptanmıştır; üfürüm, sürtünme veya ekstra sesler yoktur. Akciğerleri bilateral olarak oskültasyonda doğaldır ve karın bölgesi azalmış bağırsak sesleriyle birlikte, yumuşak ve ağrısızdır. Hastanın fokal nörolojik defisiti yoktur. İdrarda ilaç taraması, opiyatlar

ve benzodiazepinler için pozitif sonuç vermesine rağmen temel laboratuvar çalışmalarında olağandışı bir bulgu saptanmamıştır. Elektroensefalografi (EEG) ve beyin manyetik rezonans görüntüleme (MR) gibi nörolojik çalışmalar olağan bulgular göstermiştir (78).

EKG, V1-V2 derivasyonlarında tip 1 Brugada paternine benzeyen bir görüntü sergilemiştir. Sağ aks sapması, PR aralığı 339ms ile birlikte birinci derece AV blok ve QRS süresi 270ms, QTc süresi 578ms ile birlikte görülen sağ dal bloğu gözlenmiştir. Ekokardiyografi, normal sol ventrikül fonksiyonu ve önemli yapısal anormallik olmadığını göstermiştir. Bilgisayarlı tomografi anjiyografisinde (BTA), koroner arter hastalığına dair herhangi bir kanıt bulunmamıştır. Hastanede yapılan telemetri izlemi sırasında VT veya VF belirtisi saptanmamıştır (78).

Bildirilen senkop epizodları bağlamında Brugada paternine benzeyen EKG anormalliklerinin varlığı göz önüne alındığında, ani kardiyak ölüm için değerlendirme yapılması düşünülmüştür (78). Serum loperamid düzeyi elde edildikten sonra hasta yakından izlenmiştir ve EKG anormallikleri 72 saat içinde düzelmiştir (78).

2.2 Amlodipin

Amlodipin, yüksek tansiyon (hipertansiyon) ve anjina (göğüs ağrısı) tedavisinde kullanılan, kalsiyum kanal blokerleri sınıfına ait bir ilaçtır. Amlodipin, kan damarlarının genişlemesine yardımcı olarak kan basıncını düşürür ve kalp kasına daha az oksijen gereksinimini sağlamaktadır. Bu şekilde, kan akışını artırarak kalp üzerindeki yükü azaltan ilaç, anjinaya bağlı göğüs ağrısını hafifletmektedir. Çalışmanın bu kısmında amlodipinin kimyasal özellikleri, farmakodinamiği, farmakokinetiği, antioksidan etkisi ve yan etkisi incelenecektir. Böylece tez araştırması için gereken temel bilgiler edinilmiş olacaktır.

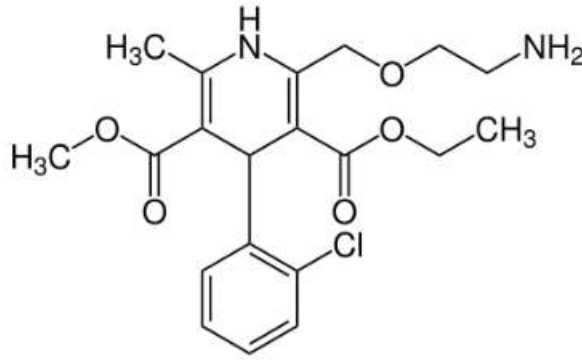
2.2.1 Amlodipinin Kimyasal Özellikleri

Kalsiyum antagonistleri olarak bilinen ilaçların, hipertansiyon ve anjina gibi birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır (79,80). Bu ilaç sınıfı; yorgunluk, cinsel işlev bozukluğu ve dislipidemi gibi daha önceki kardiyovasküler ilaç sınıflarında görülen yan etkilerin çok az görülmesiyle birlikte

etkinlikleri nedeniyle önemli bir ilerleme sağlamıştır. Ancak yakın zamana kadar kalsiyum antagonistlerinin sınırlayıcı bir özelliği, son derece yüksek metabolik klirensleridir (81). Bu durum; günlük birden fazla doz gereksinimine yol açmıştır veya 24 saatlik bir süre boyunca sürdürülen ilaç etkisini elde etmek için kompleks, devamlı salınımlı formülasyonların geliştirilmesini gerektirmiştir (82).

Amlodipin; nifedipin, felodipin, isradipin ve nikardipin gibi ilaçlarla birlikte, kalsiyum kanal blokerleri (kalsiyum antagonistleri) sınıfına ait dihidropiridin grubu ilaçtır. Dihidropiridin molekülüne temel bir amino yan zincirinin eklenmesi, amlodipinin suyla çözünebilir hale gelmesini sağlar. Dolayısıyla fizyolojik pH'da nispeten nötr olan bu sınıf ilaçlardan farklı olarak, amlodipin'in %90'dan fazlası iyonlaşmış durumdadır (83). Diğer kalsiyum antagonistlerine kıyasla, bu yapısal değişiklikler ilacın farmakokinetik özelliklerinde derin bir değişiklik yapmanın yanı sıra, fotostabilite ve hücrel dihidropiridin reseptörüne yavaş bir bağlanma hızı sabiti kazandırır (84).

Moleküler formül $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ olan ve yaklaşık olarak 567.05g/mol molekül ağırlığına sahip bir bileşiktir. Amlodipin; kimyasal olarak $(\pm)$ -2-[(2-aminoetoksi)-metil]-4-(2-klorofenil)-3-etoksikarbonil-5-metoksikarbonil-6-metil-1,4-dihidropiridin'dir (85).



Şekil 2.12. Amlodipinin Kimyasal Formülü.

2.2.2 Amlodipinin Farmakodinamiği

Kalsiyum kanal blokerleri, periferik kan damarlarında ve/veya kalpte bulunan yavaş kalsiyum kanallarını bloke ederek etki gösterir. Dihidropiridinler, en güçlü kalsiyum kanal blokerleri olarak bilinir ve bu alt sınıf olağanüstü bir şekilde yaygınlaşmıştır. Dihidropiridinler, neredeyse sadece periferik arteriyollerde bulunan L-tipi kalsiyum kanallarında etkili olurlar ve toplam periferik direncin azalmasıyla kan basıncını düşürürler (85). Amlodipin,

dihidropiridin sınıfına ait bir kalsiyum kanal blokeridir. Amlodipin; kan basıncındaki sirkadiyen ritimlerini korur ve kardiyak debi, sistemik vasküler direnç ve sol ventrikül fonksiyonu üzerinde olumlu etkilere sahiptir, ancak kalp hızı veya kardiyak iletim üzerinde çok az etkisi vardır (86).

Amlodipinin vazodilatatör etkisi yavaş bir başlangıca sahiptir. Damar düz kasında doğrudan etki ederek periferik vasküler direncin ve kan basıncının azalmasına neden olur (87). Amlodipinin ana etkisi periferik damarlar üzerinedir, ancak aynı zamanda koroner damar yatağında da vazodilatasyon (damar genişlemesi) sağlar (88). Bu etki hem arterleri hem de arteriyolleri genişleterek damarların genişlemesine yol açar (8). Bu nedenle hipertansiyon ve anjina tedavisinde kullanılır (87). Amlodipin tedavisi, daha iyi kan basıncı kontrolüyle ve kardiyovasküler olayların, toplam mortalitenin ve diyabetin azalmasıyla ilişkilidir (85).

Burris ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma; başlangıçta ve 4 haftalık tedavi sonrasında yapılan 24 saatlik ambulator kan basıncı ölçümleri, günlük olarak bir kez alınan 5mg amlodipinin hem sistolik hem de diyastolik kan basıncı değerlerini 24 saatlik doz aralığında anlamlı şekilde azalttığını ve sirkadiyen ritmi koruduğunu göstermektedir. Ayrıca, 24 saatlik ambulator kalp hızı değerleri, amlodipinin başlangıçla karşılaştırıldığında 24 saatlik süre içinde ortalama saatlik kalp hızı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Bu çalışma; kan basıncının etkili bir şekilde 24 saat boyunca kontrolü için, günlük bir kez uygulanabilen bir ilaç olan amlodipinin etkili ve iyi tolere edilen bir antihipertansif ajan olduğunu göstermektedir (89).

Hipertansiyonlu hastalarda, 2.5 ila 10mg/gün dozunda 6 haftaya kadar alınan amlodipin dozlarıyla ortalama sistolik ve diyastolik kan basınçlarında gözlenen azalmalar genellikle yaklaşık %10 ila %18 arasında değişmektedir (89). Bu etkiler, 1 yıla kadar sürdürülmüştür (90). İlacın, normal tansiyonlu bireylerde kan basıncı üzerinde çok az veya hiç etkisi yoktur (91,92).

Frais ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; yeni ve uzun etkili yavaş kalsiyum kanal blokeri olan amlodipinin hemodinamik doz-tedavi yanıt etkileri, anjiyografik olarak onaylanmış koroner kalp hastalığı olan 20 hastada değerlendirilmiştir. On hastaya ilacın dört farklı iv dozu (toplam doz 1.25, 2.5, 5 ve 10mg) verilmiştir ve enjeksiyondan sonraki 10 ila 15 dakika içinde, on hastanın hemodinamisi belirlenmiştir. Dolaşım parametrelerine etkiler, yalnızca

maksimum toplam dozajdan sonra belirgin hale gelmiştir. Daha yüksek dozlamada, amlodipinin istirahat halindeki sistolik, diyastolik ve ortalama sistemik arteriyel basıncı ve sistemik vasküler direnç indeksini ($p<0.01$) önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Kalp hızı, atım hacmi indeksi ve kardiyak indeks ($p<0.01$) arttarken; pulmoner arter basıncının değişmediği görülmüştür. Düzenli yük bisiklet egzersizi sırasında ortalama arteriyel basınç önemli ölçüde azalırken ($p<0.01$), kalp hızı ve kardiyak indeks ise artmıştır ($p<0.01$). Sonuç olarak, stabil koroner arter hastalığında amlodipinin anlık etkisi, sol ventrikül afterload'ını azaltırken kardiyak pompalama fonksiyonunu güçlendirmesidir (93).

Lund-Johansen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; esansiyel hipertansiyonu olan 18 hastada (ortalama yaş 43), hem istirahat halinde hem de egzersiz sırasında uzun vadeli hemodinamik yanıtlar incelenmiştir. Günlük olarak 5-10mg amlodipin ile 11 aylık tedavinin ardından (ortalama doz 9mg/gün), otururken ve istirahatte ortalama arteriyel basıncın %14 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Kan basıncındaki azalma, toplam periferik direnç indeksinde %19 oranında belirgin bir azalma ile ilişkilendirilmiştir. Benzer sonuçlar, yatarken, istirahatte ve 50W, 100W ve 150W bisiklet egzersizi sırasında da gözlenmiştir. Kalp hızında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (90).

Lucchesi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; amlodipinin kalp koruyucu etkisi, 60 dakika boyunca global olarak iskemik hale getirilen ve ardından 60 dakika boyunca reperfüzyon yapılan izole edilmiş, kan-perfüze edilmiş kedi kalplerinde incelenmiştir. Onbir kontrol ve yedi amlodipin tedavisi yapılan kalpte amlodipin, koroner vasküler dirençte önemli ölçüde azalmaya neden olmuştur; bu azalma perfüzyon basıncındaki ve miyokardiyal oksijen tüketimindeki değişiklikler ölçülerek saptanmıştır. Global iskemi başlamadan önce verilen amlodipin, iskemik kontraktür gelişimini azaltmıştır. İstirahat halinde sol ventrikül diyastolik basıncında, ilerleyici bir artış meydana getirerek bu sonucu doğrulamıştır. Nihayetinde; amlodipin, miyokardiyal iskemik hasarı azaltan mekanizmaları içerebilecek şekilde, miyokardiyal oksijen talebinde azalmaya ve I/R sırasında transmembran kalsiyum iyonu akımlarını olumlu yönde etkileyerek miyokardiyal iskemik hasarı azalttığı sonucuna varılmıştır (94).

Meluzin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 5 ve 10mg amlodipin ile plasebonun etkileri, stabil anjina pectoris ve çok damarlı koroner arter hastalığı olan 21 hastada karşılaştırılmıştır. Kör karşılaştırma; bisiklet ergometrisi ve stres

ekokardiyografi yöntemi kullanılarak, sol kalp atriyumunun özofageal uyarımı ile yapılmıştır. Tüm hastalara daha sonra 2 hafta boyunca plasebo, 5mg amlodipin ve 10mg amlodipin verilmiştir. Bisiklet ergometrisinde, her iki doz amlodipin alanlarda, plaseboya kıyasla V5 derivasyonunda ST segment depresyonunu anlamlı şekilde azaltırken, anjina başlangıç süresini uzattığı görülmüştür. Stabil anjina pektorisli hastalarda amlodipinin, egzersiz toleransını ve sol ventrikül fonksiyonunu doza bağlı olarak önemli ölçüde iyileştirdiği saptanmıştır (95).

Amlodipinin antiaterosklerotik potansiyeli ile ilgili çalışmalar da mevcuttur. Chichester ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; amlodipin alan spontan hipertansif sıçanların aort şeritlerinde, tedavi edilmemiş kontrol grubundan elde edilen şeritlere göre %49 daha düşük bir kollajen içeriği tespit edilmiştir. İn vitro olarak kollajen sentezi; amlodipin uygulanan şeritlerde tedavi edilmemiş kontrol grubuna göre %57 daha az olduğu saptanmıştır. Bu durum; amlodipinin vasküler düz kas hücrelerinde kollajen üretimine karşı gösterdiği inhibe edici etkisiyle, antiaterosklerotik potansiyelini göstermektedir (96).

Bernini ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma; amlodipinin, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) reseptör bağlanmasını uyardığını göstermiştir. Bu etki, özel bir yolak aracılığıyla arter duvarındaki lipoprotein katabolizmasını değiştirebilir. Bu durum LDL'nin; hücre içinde birikmesine neden olarak, arter duvarındaki kolesterol birikimini azaltıp aterogenezin yavaşlamasına yol açtığı düşünülebilir (97).

2.2.3 Amlodipinin Farmakokinetiği

Amlodipin besilat, yüksek derecede iyonizasyona sahip olan ve belirgin farmakokinetik özelliklere sahip bir dihidropiridin kalsiyum kanal blokeridir (98). Radyoaktif olarak işaretlenmiş oral amlodipin, insan sindirim sisteminde yavaş ancak neredeyse tamamen emilir. Hem oral hem de iv uygulama sonrasında idrar ve dışkıda benzer bir radyoaktif madde geri kazanımı gözlenir (99). Sağlıklı gönüllülerde, tek doz 10mg oral amlodipin uygulaması sonrasında ilaç iyi emilir ve ortalama %64 mutlak biyoyararlanım elde edilir. Tek doz 10mg oral amlodipin uygulaması sonrasında, ortalama pik konsantrasyon zamanı (Tmax) 6,4 ve 7,6 saat bildirilmektedir (100).

Faulkner ve arkadaşlarının yaptığı 12 sağlıklı gönüllüde yapılan bir çalışmada, sistemik amlodipin biyoyararlanımı üzerine yiyeceğin etkisi incelenmiş ve ilaç emilimi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (101).

Sağlıklı gönüllülere 10mg iv doz uygulandıktan sonra gözlenen dağılım hacmi 21.4 ± 4.4 L/kg olarak bildirilmiştir. Büyük dağılım hacmi, ilacın geniş ölçüde dokulara dağıldığını gösterir. İv uygulama sonrasında plazma konsantrasyonundaki ilk azalma hızlıdır ve ilacın kan dolaşımından dokulara geçişi, bireysel farklara bağlı olarak doz sonrası 0.75-2 saat içinde tam veya neredeyse tamamlanmış olarak görünmektedir (100).

Amlodipinin plazma proteinlerine %97 oranında bağlandığı bilinmektedir (102).

Diğer dihidropiridinlere kıyasla daha hidrofilik olan amlodipin, pozitif yüklü yan zincirin bir fosfolipit molekülünün fosfat başı ile etkileşime girebilmesi için uygun bir konumda yer almaktadır. İlaç ile fosfolipid molekülleri arasındaki güçlü elektrostatik etkileşim, yüksek membran afiniteyi ve dolayısıyla büyük bir dağılım hacmini desteklemektedir (103).

Diğer dihidropiridinler gibi, amlodipinin insanlarda ilk biyotransformasyonu; dihidropiridin yapı biriminin oksidasyonu ile piridin analoguna dönüşmesidir. Amlodipin, geniş çapta ancak yavaş bir şekilde hepatik metabolizmaya uğrar (104). Önemli bir şekilde, amlodipin metabolitlerinin hiçbirinin önemli farmakolojik aktivitesi bulunmamaktadır. Amlodipinin oral olarak verilen dozunun %10'unundan daha azının, değişmeden atıldığı bilinmektedir (105).

2.2.4 Amlodipinin Antioksidan Etkisi

Kalsiyum kanal blokerleri arasında yer alan dihidropiridinlerden olan amlodipin ve azelnidipin, antioksidan aktivite sergilemektedir (106,107). Mason ve arkadaşları; amlodipinin, farmakolojik olarak ilgili dozlarda, çoklu doymamış yağ asitleri ile zenginleştirilmiş izole membran veziküllerinde lipid peroksidasyonunu inhibe etme açısından felodipin, diltiazem, verapamil ve kaptopril ile üstün olduğunu bildirmiştir (108). Amlodipinin antioksidan özellikleri, kalsiyum kanal düzenlemesinden bağımsızdır. Amlodipinin kimyasal yapısıyla ve doğrudan membran lipid çift tabakası ile fizikokimyasal etkileşimlerine bağlıdır.

Amlodipinin lipofilik olmasından dolayı, hücre zarında yoğun olarak birikir ve bu da onun serbest radikalleri etkili bir şekilde temizlemesini ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu engellemesini sağlar. Aromatik halkalarıyla ilişkili iki transfer edilebilir hidrojen (H) atomu, amlodipinin antioksidan aktivitesini daha da artırır (103). Ayrıca, amlodipinin Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) oksidazın güçlü bir aktivatörü olan protein kinaz C α 'nın aktivitesini modüle ettiğine dair kanıtlar da bulunmaktadır (109).

Chen ve arkadaşlarının tavşanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada; kolesterol düşürücü hidrosimetilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörü lovastatin, dihidropiridin kalsiyum kanal blokeri amlodipin ve antioksidan vitamin E'nin anti-aterojenik etkilerinin ortak mekanizmalarını belgelemeyi amaçlamaktadırlar. Bu çalışma ilk kez, aterosklerozun yaygınlığının lipid peroksidasyonunun yaygınlığıyla orantılı olduğuna dair kesin kanıtlar sunmaktadır. Bu kanıtları destekler şekilde, aortik ateroskleroz yaygınlığı ile plazma MDA değerleri arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca; lovastatin, amlodipin ve E vitamininin her birinin hiperlipidemik tavşanlarda lipid peroksidasyona karşı koruma sağladığını ve endojen antioksidan enzim SOD'u koruduğunu saptamışlardır. Ayrıca, in vitro deneylerde lovastatin ve amlodipinin LDL oksidasyonunu inhibe edici etkileriyle, her ikisinin de antioksidan aktivitesini göstermişlerdir (110).

Halıcı ve arkadaşlarının rat overlerinde yaptığı bir çalışmada; deneysel olarak iskemi ve I/R hasarı üzerinde amlodipinin antioksidan etkilerini değerlendirmeyi ve histopatolojik değişiklikleri analiz etmeyi amaçlamışlardır. Daha önceki birçok deneysel modelde, amlodipinin antioksidan ve antienflamatuvar etkilerine bağlı olarak oluşan doku hasarı üzerindeki koruyucu etkisi gözlenmiştir. Bu etkilerinin I/R hasarını hafifletmesini açıklayabilir. Ancak, iskemi veya reperfüzyonun başlangıcında kısa süreli amlodipin uygulamasının I/R hasarını önleyip önlemediği veya hafifletip hafifletmediği net değildir. Bu çalışma, amlodipinin over dokusundaki I/R hasarına karşı koruyucu olduğunun gösterildiği ilk çalışma olmuştur. Amlodipin ile reperfüzyon öncesi ön tedavi; doza bağlı olarak antioksidan, indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibitör ve SOD stimülatör aktiviteleri sayesinde I/R sonrası over infarkt boyutunu azalttığı görülmüştür (111).

Khan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; amlodipinin I/R hasarıyla ilişkili NO üretimi üzerindeki etkisi, fare kalp modelinde araştırılmıştır. Amlodipin ön tedavi grubuyla I/R grubu karşılaştırıldığında; iskemik rat kalbinde NO üretimi ve miyokardiyal antioksidan enzim aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Bu durum, histopatolojik ve elektron mikroskopik çalışmalarda, amlodipin ön tedavi grubunda hasarın inhibisyonunu desteklemektedir. Histopatolojik olarak; I/R'ye bağlı hasarda sindirilmiş mitokondriler görülürken amlodipinle tedavi edilen grupta mitokondriler ve lizozomların normal olması, hasarın inhibisyonunu desteklemektedir. Bu nedenle bu çalışma; amlodipinin rat kalbi üzerindeki I/R hasarına karşı koruyucu etkilerinin, NO üretimine bağlı olabileceğini gösteren kanıtlar sunmaktadır (112).

Amlodipinin lipid oksidatif modifikasyon mekanizmalarına müdahale etme yeteneği, önemli bir anti-aterojenik etki mekanizması olabilir. Serbest radikallerin, hem akut (I/R) hem de kronik (ateroskleroz) kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. Amlodipin, LDL ve vasküler hücre zarlarının oksidatif modifikasyona karşı direncini artırarak, köpük hücre oluşumuna ve aterosklerozdaki diğer hücresel değişikliklere müdahale ederek koroner arter hastalığında plak stabilizasyonuna doğrudan katkıda bulunabilir (113). Klinik çalışmalarda, güçlü lipofilisiteye veya antioksidan aktiviteye sahip olmayan dihidropiridin tipi ajanlar da dahil olmak üzere diğer kalsiyum antagonistlerinin koroner arter hastalığı olanlarda klinik fayda gösteremediği görülmüştür (114,115).

2.2.5 Amlodipinin Yan Etkisi

Kalsiyum kanal blokerlerine bağlı olarak ortaya çıkan çoğu yan etki, farmakolojik etkilerinden kaynaklı olduğu düşünülebilir. Ayrıca; bu bileşiklerin heterojenitesi nedeniyle, vasküler düz kas, kalp kasılabilirliği ve iletim dokusu üzerindeki etkileri farklılık gösterir. Kalsiyum kanal blokeri ilaçlarla ilişkili olan önemli advers reaksiyonlar, kategorilere kolaylıkla ayrılabilir. Baş ağrısı, yüzde kızarma, çarpıntı, periferik ödem ve hipotansiyon gibi belirtilerle karakterize olan vazodilatasyon bulguları görülebilir. Ciddi sol ventrikül disfonksiyonu veya hasta sinüs sendromu, ikinci veya üçüncü derece AV blok durumu gibi bazı kalsiyum kanal blokerlerinin kullanımında görülen negatif inotropik etkiler; bu ilaçların

kullanımında kontrendikasyon oluşturur. Özellikle supraventriküler taşiaritmiler gibi ileti bozuklukları; kabızlık, ishal ve bulantı gibi gastrointestinal etkiler, metabolik etkiler ve kardiyak glikozitler veya beta blokerlerle ilişkili ilaç etkileşimleri görülebilir (116).

Hosie ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada; amlodipin ile nifedipini 14 günlük tedavi sürecinde görülen yan etkilerin sıklığı ve şiddeti açısından karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda; 2 haftalık tedavi sürecinde amlodipin kullananlarda yan etkilerin görülme sıklığı ve şiddeti, nifedipin alanlara göre daha düşük saptanmıştır (117).

Nifedipin gibi dihidropiridinlerde görülen periferel vazodilatasyon gibi erken yan etkiler, bu ilaçların kullanımını sınırlar. Baş ağrısı, yüzde kızarma, baş dönmesi ve çarpıntı gibi semptomlar tedavinin ilk 14 gününde ortaya çıkar. Bu semptomlar doz bağımlıdır ve ilacın plazma konsantrasyonunun hızlı yükselmesiyle ilişkilidir. Amlodipin, yapısal olarak nifedipinle ilişkili olsa da farmakokinetik özellikleriyle diğer dihidropiridinlerden farklılık gösterir. Amlodipinin plazma pik konsantrasyonu oral alımdan 6-12 saat sonra ortaya çıkar ve yarılanma ömrü diğer kalsiyum antagonistlerine kıyasla 35-50 saat gibi daha uzun süredir. Bu özellikler günde tek doz kullanıma izin verir ve serum konsantrasyon profilinde tekrarlayan piklerden kaçınılmayı sağlar. Amlodipin, nifedipine kıyasla reseptör bölgesinde daha yavaş bir etki başlangıcı gösterir. Amlodipinin bu karakteristik özelliklerinin, vazodilatasyon ilişkili erken yan etkilerin görülme sıklığının daha düşük olmasıyla ilişkili olduğu düşünülebilir (117).

Osterloh'un yayınladığı bir çalışmada; amlodipin ile nitrendipini yan etki görülme sıklığı açısından karşılaştırmıştır. Nitrendipin, günde tek doz kullanımı ve yavaş salınımlı formülasyonu ile dihidropiridinler arasında kullanıma uygun diğer bir ajandır. Çalışma sonucunda amlodipin; nitrendipine göre daha iyi tolere edilmiştir ve vazodilatasyon ilişkili yan etki görülme insidansı daha düşük saptanmıştır. Amlodipinin; beta bloker, nitrat, diüretik ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü gibi ilaçlarla kombine kullanımında daha iyi tolerasyon sağlanmıştır. Amlodipinin; hematolojik ve biyokimyasal güvenlik parametreleri üzerinde olumsuz etkileri görülmemiş, ayrıca serum kolesterol veya trigliserid seviyeleri üzerinde de olumsuz etkileri saptanmamıştır (118).

Amlodipin ile ilgili artan klinik deneyimler, ilacın herhangi bir klinik öneme sahip ilaç etkileşimine neden olmadığını göstermektedir. Amlodipinin günlük tek doz rejimi ve diğer kardiyovasküler ajan sınıflarında sıkça karşılaşılan advers olayların eksikliği, amlodipinin hipertansiyon ve miyokardiyal iskemi tedavisinde kullanılan ilaç çeşitliliğine değerli bir alternatif sağladığı düşünülmektedir (118).

2.3 Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Yaşam tarzıyla ilişkili hastalıklar ile oksidatif stres arasındaki yakın ilişki yaygın olarak bilinmektedir. Oksidatif stres, vücuttaki antioksidan sistemler ile oksidasyon arasındaki denge kaybı sonucunda oksidasyonun aşırı olduğu bir durumu ifade eder. Oksidatif stres, sadece lipid peroksidasyonu ve oksidatif DNA hasarı gibi zararlı olaylara neden olmakla kalmaz, aynı zamanda fizyolojik uyum fenomenlerine ve hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesine de katkıda bulunur (119).

Oksidatif stres genel olarak serbest radikaller ile hücrel antioksidan sistemler arasındaki redoks dengesizliği olarak tanımlanır. Reaktif oksijen türleri (ROS) ve azot türleri (RONS) ise öncelikle endojen olarak sentezlenen serbest radikallerdir. Peroksizomlar, lizozomlar, endoplazmik retikulum/mikrozomlar, plazma membranı ve sitoplazma, hepsi oksidazlar ve dehidrogenazlar içerir ve RONS' lerin kaynaklarıdır. Ancak, endojen serbest radikallerin en büyük kaynağı mitokondridir ve hücrelerde oluşan serbest radikallerin çoğunu oluşturur (120).

Genellikle bir atom, etrafında dönen çift elektronlara sahip merkezi bir çekirdekten oluşur. Ancak, bazı atomlar ve moleküller eşleşmemiş elektronlara sahiptir ve bunlara serbest radikaller denir. Serbest radikaller genellikle kararsız ve yüksek reaktivite gösterirler çünkü eşleşmemiş elektronlar diğer elektronlarla çiftler oluşturma eğilimindedir. Bir oksijen molekülü (O_2), canlı organizmalarda metabolize olduğunda dört elektron indirgeme sürecine girer. Bu süreçte, enerji eklenmesi veya geçiş elementleriyle etkileşim sonucunda elektronların uyarılmasıyla reaktif oksijen metabolitleri oluşur (119). Yaşayan organizmalarda önemli olan serbest radikaller; hidroksil ($OH^\cdot$), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), NO ve peroksil (RO_2) içerir. Peroksinitrit ($ONOO^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit ($HOCl$), tekli oksijen $^1\Delta_g$ (genellikle 1O_2 olarak yazılır) ve ozon (O_3), serbest radikal olmasa da yaşayan organizmalarda serbest radikal reaksiyonlara kolaylıkla yol açabilir. ROS terimi, sadece NO, RO_2 , $OH^\cdot$ ve $O_2^{\cdot-}$ radikallerini değil, aynı

zamanda nonradikaller olan HOCl, $^1\text{O}_2$, ONOO $^-$, O $_3$ ve H $_2\text{O}_2$ 'yi de içermek üzere sıklıkla kullanılır. Oksidatif stres terimi, ROS'un oluşumu ile antioksidan savunma mekanizmalarının aktivitesi arasındaki dengesizliği ifade eder. Şiddetli oksidatif stres, hücre hasarına ve ölümüne neden olabilir (121).

Serbest radikaller, ATP üretmek için mitokondriyal membranda elektron taşıma işlemi (ETC) sonucunda oluşur. Elektronlar diatomik oksijen moleküllerine bağlanarak O $_2^{\bullet-}$ 'yi oluşturur. Bu süperoksit; ETC'deki kompleks I veya kompleks III' den salınmasına bağlı olarak mitokondriyal matriks içine veya membran arası alana salınır (122).

Yaşayan organizmaların aerobik koşullarda tükettikleri oksijenin %90'dan fazlası, ETC' deki sitokrom oksidaz aracılığıyla dört elektronlu mekanizmalarla ROS salınımı olmadan doğrudan suya indirgenir. Ökaryotlarda, bu sistem mitokondri iç membranında bulunan ETC ile temsil edilirken, prokaryotlarda ETC bileşenleri plazmatik membranda bulunur. ETC'nin çalışması, oksidatif fosforilasyon ile bağlantılıdır ve ATP formunda enerji üretmek için kullanılır. Tüketilen oksijenin %10'dan daha azı, bir elektronlu ardışık yollarla indirgenerek moleküler oksijenin O $_2^{\bullet-}$ radikaline dönüşmesine ve ardından bir elektronlu indirgeme ile iki protonun alınmasıyla H $_2\text{O}_2$ eldesine neden olur. H $_2\text{O}_2$, bir elektron daha alarak hidroksil radikali (HO $\cdot$) ve hidroksil anyonuna (OH $^-$) dönüşebilir (123).

NO bir serbest radikaldir. Vasküler endotel hücreler tarafından üretilen bradikinin ve asetilkolin gibi birkaç farmakolojik ajanın neden olduğu damar tepkilerinin önemli bir aracısı olan endotel kökenli gevşeme faktörünün (EDRF), NO ile aynı olduğu düşünülmektedir. Kan damarlarını çevreleyen vasküler endotel hücreleri ayrıca süperoksiti küçük miktarlarda üretirler ve bunlardan bazıları NO ile reaksiyona girerek nonradikal ürünler oluşturabilir. NO ve süperoksit arasındaki reaksiyon, ONOO $^-$ oluşumu nedeniyle DNA oksidatif hasarına yol açar (121). NO kendi kendine oksidasyona uğrayarak NO $_2^-$ ve NO $_3^-$ formunu alabilir ve bunlar vücut içinde artan serbest radikallerin ve oksidatif stresin göstergeleridir (124).

RO $_2$, yağ oksidasyonu zincir reaksiyonları sırasında oluşan ara türlerdir. Çoklu doymamış yağların oksidasyonu sırasında meydana gelir ve lipid içeren gıdaların bozulmasına neden olabilir. Lipid peroksidasyonu, membran lipidlerindeki çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) yan zincirinden (örneğin

araşidonik asit ve linolenik asit gibi) bir H atomunu soyabilme yeteneğine sahip herhangi bir tür tarafından başlatılabilir. Lipid peroksidasyonunun son ürünleri, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin oluşturduğu bazı stereospesifik ürünlerin etkilerini taklit etme veya antagonize etme yetenekleri nedeniyle vasküler fonksiyon üzerinde derin etkilere sahip olabilir (121).

HOCl, inflamasyon bölgelerinde nötrofil kaynaklı enzim miyeloperoksidaz tarafından üretilir ve aktive olan nötrofiller oksijenlenen dokuya sızdığında oluşur. Miyeloperoksidaz enzimi, H₂O₂'nin varlığında klorür iyonlarını (Cl⁻) oksitleyerek işlem yapar. HOCl, bir serbest radikal değildir, ancak güçlü bir klorlama ve oksidasyon ajanıdır (121).

Oksijenin bir elektron indirgenme ürünü O₂^{•-} radikaliyken; eğer iki elektron aktarılsa, ürün H₂O₂ olur ve bu bir radikal değildir. Yine de, H₂O₂ hala iki ekstra elektronu hevesle kabul eden bir yapıya sahiptir ve bu nedenle sitotoksik bir oksidan etkiye sahiptir (125). H₂O₂, membranları geçebilir ve birçok bileşiği yavaşça oksitleyebilir. H₂O₂, O₂^{•-}'nin dismutasyonu ve birçok oksidaz enzimi tarafından da vücut içinde oluşabilir. Daha yüksek seviyelerde H₂O₂, birkaç hücrel enerji üretim sistemine saldırabilir. Örneğin, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz adlı glikolitik enzimi etkisiz hale getirebilir (121).

OH[•] radikalleri, H₂O₂'nin bir elektron daha kabul etmesiyle oluşur. Son olarak, OH[•] radikali bir elektron ve protonla daha etkileşerek su molekülünün oluşmasına neden olur (123). OH[•]'nin bir özelliği, başka bir radikal oluşturmaktır, yani bir molekülle reaksiyona girdiğinde sonuç başka bir radikal türünün oluşmasıdır. OH[•], tüm proteinlere, DNA'ya, membranlardaki PUFA'ya ve temas ettiği neredeyse tüm biyolojik moleküllere saldırır (121).

Lipid peroksidasyonu, genellikle PUFA'ya hasar verir, çünkü oksidasyona daha fazla yatkın olan H zincirlerinin daha fazla sayıda olduğu lipidlerdir. Lipid peroksidasyonu süreci; zarın akıcılığını, işlevselliğini, geçirgenliğini, elektron potansiyelini ve metabolitlerin membranlardan taşınmasını etkileyebilir. Lipid peroksidasyonu, oksidatif stres araştırmalarında en yaygın olarak değerlendirilen bir süreçtir. Lipid peroksidasyonunun çeşitli plazma belirteçleri vardır, bunlar arasında MDA, lipid hidroperoksitler, konjuge dienler, oksidasyon direnci testi (gecikme süresi), oksisteroller ve F₂α-izoprostanlar bulunur (126).

MDA, lipid peroksidasyonunun kararlı bir aldehit parçalanma yan ürünüdür ve doğrudan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi, spektrofotometrik veya spektrofloresan yöntemleriyle ölçülebilir (126).

Biyolojik örneklerdeki MDA'nın başlıca kaynağı, iki veya daha fazla metilenle kesilmiş çift bağa sahip PUFA'nın peroksidasyonudur. Bu molekül, nükleik asit bazlarıyla etkileşime girerek çeşitli farklı bileşikler oluşturabilir (127). Voitkun ve Zhitkovich, MDA'nın DNA-protein çapraz bağları oluşturma yeteneğini bildirmişlerdir (128). MDA'nın tüm bu potansiyel genotoksik etkileri, mutasyonlara ve sonuç olarak kansere yol açabilir. Bununla birlikte MDA toksisitesi, aynı zamanda kardiyovasküler stabiliteye de zarar verebilir (127). MDA'nın başka bir olası toksik etkisi kollajenle ilgilidir. Çapraz bağın doğası henüz detaylı olarak belirlenmemiş olsa da; MDA aracılığıyla kollajenin arasında gerçekleşen moleküler düzeyde çapraz bağlanma, kardiyovasküler dokunun sertleşmesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir (129).

Son 20 yılda MDA; birçok hastalıktan etkilenen bireylerde artmış MDA seviyeleri olduğu için önemli bir lipid peroksidasyon göstergesi olarak kabul edilmiştir (130).

Çırak ve arkadaşları; sağlıklı kontrol grubuna kıyasla, serum ve doku MDA seviyeleri daha yüksek olan malign beyin tümörlerinde oksidatif stresin arttığını öne sürmektedir. Bu nedenle MDA, malign tümörlerin teşhisi ve takibi için kullanılabilecek belirteçlerden biri olabilir (131).

Diyabet durumunda; dirençli hiperglisemi, protein glikasyonu veya glikoz oto-oksidasyonuna bağlı olarak serbest radikal üretiminin artmasına neden olabilir. Kesavulu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; Tip 2 diyabet hastalarında MDA düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Araştırma grubu ayrıca, koroner arter hastalığı olan diyabetik hastaların, bu hastalığı olmayan diyabetiklere göre daha yüksek MDA düzeylerine sahip olduğunu gözlemlemiştir (132). Bu durum, kardiyovasküler hastalıkların serbest radikal aracılı mekanizmalarla ve lipid peroksidasyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir (130).

Kümülatif son kanıtlar, kardiyotoksik ilaçların genellikle mitokondriyal işlev bozukluğuna neden olduğunu göstermektedir. Mitokondriyal proteinlerin oksidatif/nitratif modifikasyonları, miyokard disfonksiyonunun gelişiminde kritik bir rol oynayabilir. Oksidatif/nitratif modifikasyonlar; enzimlerin katalitik alt

birimlerinin ayrışması, lokal veya global ayrışmayı, birikme veya parçalanma gibi potansiyel olarak zararlı olayları tetikleyebilir. Bu durum, modifiye edilmiş proteinlerin bozunmasını teşvik ederek otofaji/mitofaji ve endoplazmik retikulum stresine yol açabilir (133).

Oksidasyon/nitratif süreçler, ROS/RONS veya lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ikincil oksidasyon reaksiyonu ürünleri (örneğin; MDA veya 4-hidroksinonenal) tarafından doğrudan tetiklenebilir. Mitokondri içinde üretilen serbest radikaller, demir-kükürt kümeleri ile etkileşime girerek elektron taşıma komplekslerini doğrudan etkisiz hale getirebilir veya mitokondriyal geçiş porlarının açılmasını tetikleyerek apoptozu başlatan yolların aktivasyonuna neden olabilir (133). Kardiyomiyositlerde artan ROS üretimi, apoptotik ve nekrotik hücre ölümünde rol alan çeşitli mitokondriyal bağımlı ve bağımsız hücre ölümü yollarının aktivasyonunu tetiklediği saptanmıştır (134).

Oksidatif stres, belirlenmiş kardiyovasküler risk faktörlerinin patojenitesinde yaygın bir aracıdır. Oksidatif stres belirteçlerini tespit etmek, birçok araştırmacının odaklandığı bir konudur; çünkü bu belirteçler, kardiyovasküler patobiyolojiyi yönlendiren birçok sürecin belirleyicisi olarak potansiyel taşır. Oksidatif stres biyobelirteçlerinin prognoz belirlemede ve bireyselleştirilmiş tedavi yönlendirmede kullanılabilirliği, bir "entegratör" olarak işlev görme potansiyelleri sayesinde, birçok patofizyolojik sürecin total etkisini yansıtması nedeniyle desteklenmektedir (135).

2.4 Antioksidan Enzimler

Biyolojik sistemleri serbest radikal toksisitesinden korumak için; enzimatik ve enzimatik olmayan yollardan oluşan bir dizi hücrel antioksidan savunma mekanizması, ROS üretimini kontrol altında tutar (136). Antioksidan terimi, düşük konsantrasyonlarda bile bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya inhibe eden herhangi bir madde için kullanılabilir bir terimdir. Antioksidan savunmada rol oynayan birkaç molekül vardır; bunlar ya endojen olarak sentezlenen ya da ekzojen olarak dışardan tüketilen olabilir. Antioksidanlar, eylem mekanizmalarına bağlı olarak iki gruba ayrılabilir. Bunlar zincir kırıcı antioksidanlar veya önleyici antioksidanlar olabilirler. Önleyici antioksidanlar zincir başlangıcının hızını azaltırken, zincir kırıcı antioksidanlar zincir yayılımına müdahale eder. Önleyici

antioksidan sistemler, serbest radikallerin ve aktive oksijen türlerinin kontrolsüz bir şekilde oluşmasını önler veya biyolojik yapılarla olan reaksiyonlarını inhibe eder (137).

Enzimatik antioksidan savunmanın önemli bileşenleri SOD, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve CAT'tır (138).

2.4.1 Süperoksit Dismutaz

SOD, 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından izole edilmiştir ve $O_2^{\cdot-}$ anyonlarının temizlenmesi için temel mekanizmayı oluşturur (139). SOD keşfi ve ardından aerobik organizmalar arasında yaygın olarak dağıldığının fark edilmesi iki önemli sonuç doğurmuştur. Birincisi; moleküler oksijenin metabolizmasının evrensel olarak $O_2^{\cdot-}$ radikalinin üretimine neden olduğudur. İkincisi; $O_2^{\cdot-}$ radikalinin organizma için yeterince toksik olması nedeniyle hızlı ve etkili bir şekilde uzaklaştırılmasının hayati önem taşıdığıdır (140).

SOD'un ROS metabolizmasında merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. SOD'un iki ucu keskin bir kılıç olduğu açıktır, çünkü göreceli olarak düşük reaktiviteye sahip olan ve zarları kolayca geçemeyen $O_2^{\cdot-}$ 'yi zarları kolayca geçebilen H_2O_2 'ye dönüştürür (141).

Günümüzde, birkaç yaygın SOD formu bilinmektedir. Bunlar, bakır ve çinko, mangan veya demir ile kofaktör olan oligomerik proteinlerdir. SOD alt birimleri iki alanlı bir yapı sergiler: birinci alan α -heliksler içerirken, ikinci alan hem α -heliksler hem de β -tabakalarından oluşur (142).

SOD'ların tüm aerobik organizmalardaki temel rolü, hücrelerin sitoplazması, mitokondri ve endoplazmik retikulumunda üretilen $O_2^{\cdot-}$ radikallerini nötralize etmektir. Ancak, $O_2^{\cdot-}$ 'nin ayrışmasıyla hücrelere toksik olan H_2O_2 'yi oluşturması SOD'un pro-oksidan bir etkisinin de olabileceğini düşündürür. Bu tehlikeli H_2O_2 'nin uzaklaştırılması için CAT ve GPx enzimleri gibi diğer antioksidan sistemlerin varlığı gereklidir (142).

2.4.2 Katalaz

CAT; H_2O_2 'yi metabolize eden ancak birçok farklı substratla da reaksiyona girebilen, kökeni 19. yüzyıla kadar uzanan ve Thénard'ın 1818 yılında keşfettiği H_2O_2 'nin dokulardaki parçalanmasının yaşayan organizmalar tarafından "özel"

bir madde aktivitesi sonucu olduğunu düşündüğü enzimdir. Schönbein, bir "ferment" in H_2O_2 'yi detoksifiye edebildiğini göstermiştir ve daha sonra ise Loew, H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştüren enzime "katalaz" adını vermiştir (143).

CAT'lar, H_2O_2 'nin oksidasyonu sırasında moleküler oksijen üretirler. Bu süreç, H_2O_2 'nin ayrışması olarak adlandırılır. Enzimin aktivitesi, üç temel yapısal bölgenin konformasyonuna bağlıdır. Bunlar; aktif bölgedeki hem grup, NADPH bağlayan bölgedeki indirgenmiş NADPH ve tetramerizasyon sırasında uzun peptit döngülerinin iç içe geçirilmesi ve birbirine dolanmasıyla oluşan karmaşık ikincil bir yapıdır. CAT tarafından H_2O_2 'nin su ve oksijene dönüştürülmesi, iyi anlaşılmış iki aşamalı bir süreçtir. Bu süreçte, CAT hem Fe^{+3} , bir molekül H_2O_2 'yi suya indirgerken, kovalent bir $Fe^{+4}O$ oksiferil türü ve bir porfirin katyon radikalini oluşturur. Bu reaksiyonun ara maddesi bileşik I olarak adlandırılır ve daha sonra ikinci bir H_2O_2 molekülünü oksitleyerek moleküler oksijen ve bir başka su molekülü oluşturur (144).

CAT enzimi, H_2O_2 'nin ve diğer sitotoksik oksijen türevlerinin konsantrasyonunu kontrol etmede baskın bir rol oynar. CAT; normal insan eritrositlerinde yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz kalan yerlerde oluşan H_2O_2 'nin yarısından fazlasını uzaklaştırarak hemoglobini korur. CAT; iltihaplanma, mutajenez, apoptozun önlenmesi ve geniş bir tümör yelpazesinin uyarılması gibi önemli faktörlerle ilişkilendirilmiştir (145).

2.5 Kardiyak Hasarın Belirlenmesinde Biyokimyasal Belirteçler

Kardiyak biyobelirteçler, Amerikan Kardiyoloji Koleji ve Avrupa Kardiyoloji Derneği tarafından belirlenen yeni akut miyokard enfarktüsü (AMI) tanımında merkezi bir role sahiptir. Bir biyobelirteç, normal biyolojik süreçlerin, patojenik süreçlerin veya terapötik bir müdahalenin farmakolojik yanıtının bir göstergesi olarak objektif olarak ölçülen ve nicelendirilen bir özelliktir (146).

Tarih boyunca, kardiyak nekrozun belirteçleri enzimatik aktivite analizleriyle ölçülmüştür. Günümüzdeki analizler ise protein konsantrasyonunu ölçer. Bu nedenle, "biyokimyasal tanısal belirteçler" veya "biyobelirteçler" terimleri, "kardiyak enzimler" teriminden daha uygun olacaktır (147).

Tarih olarak 1954'ten itibaren; aspartat aminotransferaz (AST) ile başlayarak, 1955 yılında laktat dehidrogenaz (LDH) ve 1960 yılında kreatin

fosfokinaz (CPK) veya kreatin kinaz (CK) gibi miyokard kaynaklı enzimler akut koroner sendromda tanı koymak için kullanılmıştır. Ancak, enzim analizleri yerini; kısa sürede gerçek miyokard nekrozu öncesinde tespit edilen diğer daha küçük moleküllere bırakmıştır ve şu anda çoğunlukla kullanılmamaktadır (146).

2000 yılında, AMI tanımı, nekrozun kardiyak özgül belirteçleri olan troponinler ve kreatin kinaz izoenzim MB'yi (CK-MB) içerecek şekilde yenilenmiştir. Eski, spesifik olmayan kardiyak belirteçlerin (örneğin, toplam CK, AST, LDH veya LDH izoenzimleri), AMI teşhisinde kullanılması önerilmemektedir (147).

Kardiyak biyobelirteçlerin hepsi, kardiyak miyositlerde bulunan makromoleküllerdir ve serumda görünmeleri, miyosit hasarı ve sarkolemmal bütünlüğün kaybının bir göstergesidir (148).

2.5.1 Miyogloblin

Miyogloblin, düşük molekül ağırlığına sahip, sitoplazmik bir hem proteindir. Miyogloblin, konvansiyonel olarak ölçülen AMI'nın en duyarlı erken belirteçidir ve enfarktüs başlangıcından itibaren 1 saat kadar erken sürede yükselebilir (149). Miyogloblin düzeyi 4-12 saat arasında zirve yapar ve hemen ardından bazal seviyeye döner (150). Miyogloblin düzeyleri; böbrek yetmezliği, iskelet kası yaralanması, travma ve diğer hastalıklara sahip hastalarda sıklıkla yükselir (147). Miyogloblinin temel dezavantajı, iskelet kasında büyük miktarda bulunan miyogloblin varlığı nedeniyle kardiyak dokuya özgül olmayan spesifiklik eksikliğidir. Bu nedenle; miyogloblin düzeyleri tek başına tanısal bir belirteç olarak kullanılamaz, ancak troponinler veya CK-MB ile birlikte kullanılabilir (150). Miyogloblin, AMI'nin erken bir belirteci olarak yüksek negatif prediktif (öngörü) değeri sergiler. Bu nedenle; miyogloblin AMI teşhisini kesinleştirmek için değil, dışlamak için potansiyel olarak faydalı olabilir (151).

2.5.2 Laktat Dehidrojenaz 1

LDH enzimleri, L-laktatın pirüvata reversible oksidasyonunu katalizleyen enzimlerdir (148). AMI sonrasındaki serum LDH aktivitesindeki artış, genellikle 6-12 saat içinde başlar, yaklaşık 48 saatte maksimum seviyeye ulaşır ve normal seviyelere inmeden önce 4-14 gün boyunca yüksek kalır. Uzun süreli yüksek

seyreden serum seviyeleri; AMI'dan birkaç gün sonra hastaneye kabul edilen hastalar için LDH'ı iyi bir belirteç yapar (152).

LDH birçok dokuda bulunur ve doku içeriği büyük ölçüde değişkenlik gösterir (148). LDH, beş izoenzim içerir (LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 ve LDH5). Karaciğerde LDH3, LDH4 ve LDH5 bol miktarda bulunurken; kalp kasları LDH1 ve LDH2 (LDH1>LDH2) açısından zengindir. AMI'da serumda LDH1 oranında belirgin bir artış ve karaciğer hastalığında LDH5 artışının bulunması gibi, LDH izoenzimlerinin farklı dağılımı, farklı teşhislerde kullanılmasını sağlar (152).

2.5.3 Kreatin Kinaz ve Kreatin Kinaz İzoenzim MB

CK; kas (MM), kalp (MB) ve beyin (BB) gibi üç temel izoenzim olarak bulunan bir dimerik proteindir. CK, iskelet kası hasarının güvenilir bir belirtecidir (153). CK, kalp biyobelirteci olarak ilk kez 1979 yılında bulunmuştur. Daha önceleri, AMI için toplam CK değerlendirilmekteydi. Ancak, toplam CK'nın %95'ini CK-MM fraksiyonu içerdiği için; son dönemdeki kavramlar, göreceli indeks skoru (RI) kullanımını önermektedir. RI; CK-MB RI = $[\text{CK-MB (ng/ml)}/\text{Total CK (U/l)}] \times 100$ şeklinde formüle edilmiştir (150).

AMI'dan sonra serum CK aktivitesi, 6 saat içinde artar, ortalama olarak 24 saatte zirve yapar ve 2-3 gün içinde normale döner. İskelet kasında büyük miktarda bulunması ve kas distrofisi, hipotiroidizm, hipotermi, alkolizm, serebrovasküler olaylar ve çeşitli miyopatilerde artan düzeylerin bulunması, CK'yı miyokard hasarının bir belirteci olarak uygun olmaktan çıkarmaktadır (152).

CK-MB fraksiyonunun miyokarda daha spesifik olması nedeniyle CK'nın yerini hızla almıştır ve altın standart olarak kabul edilmiştir. CK-MB, miyokardda toplam CK'nın neredeyse %30'unu oluşturur ve toplam CK aktivitesindeki %5'ten fazla bir artış, kalp kasında hasar olduğunu düşündürür (146).

Miyokard hasarının ardından; başlangıçta CK-MB yükselişi göğüs ağrısı başlangıcından 4 ila 9 saat sonra gerçekleşir, 24 saatte zirve yapar ve 48 ila 72 saatte bazal seviyeye döner. CK-MB'nin daha uzun süre yüksek kalan belirteçlere göre bir avantajı, seri CK-MB ölçümü kullanarak tekrar gelişen enfarktüsü daha kolay tespit etmesidir. CK-MB düzeyi ayrıca miyokardit, kalp transplantasyonu

reddi, kalp cerrahisi ve diğ er nedenlerle iskemik olmayan kardiyak hasarı olan hastalarda da yüksek olabilir (151).

2.5.4 Kardiyak Troponinler

Troponin, iskelet ve kalp miyositlerinin kasılma mekanizmasının bir bileşenidir (154). Kardiyak troponinler, kardiyomiyositlerde bulunan troponin-tropomyosin kompleksinin kardiyak izoformlarıdır ve kardiyak troponin T (cTnT) ve kardiyak troponin I (cTnI) olmak üzere iki ana türü vardır (155). cTnT, troponin kompleksini aktin filamentine bağlarken; cTnI, yetersiz kalsiyum iyonları varlığında miyozin başlarının etkileşimini engeller (154). Bu proteinlerin miyokard yaralanmasını takiben plazmada yükseldiği bilinmektedir ve troponinler AMI tanımının temel bileşeni haline gelmiştir (156). Bu nedenle, kan dolaşımında cTnT veya cTnI'nın tespiti, kardiyak hasar için son derece spesifik bir belirteçtir (157).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Çalışmanın bu kısmında tez çalışmasının gereçleri açıklanacaktır. Bu bölümde etik kurul onayının alınması süreci ve proje destekçileri, deneklerin özellikleri ve bakımı, çalışmada kullanılan ilaçlar hakkında bilgi verilecektir.

3.1.1 Çalışmanın Etik Kurulu Onayı ve Proje Desteği

Bu çalışma T.C. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi (BAİBÜ) Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun 05.10.2022 tarihli ve 2022/32 numaralı kararı ile kabul edilmiş ve T.C. BAİBÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü kapsamında 2023-TUP-6.12.56-0002 no' lu proje olarak desteklenmiştir.

3.1.2 Deneklerin Özellikleri ve Bakımı

Çalışmada, 43 adet 250-300gr vücut ağırlığında yetişkin dişi Wistar Albino ratlar kullanılmıştır. Denekler 17-21°C sıcaklık ve %50-55 nem oranındaki odalarda 12 saat aydınlıkta, 12 saat karanlıkta barındırılarak herhangi bir yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın beslenmiştir. Tüm deney hayvanları T.C. BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir.

3.1.3 Çalışmada Kullanılan İlaçlar

- Loperamid HCL tablet (Lopermid 2mg tablet, Saba, İstanbul, Türkiye)
- Amlodipin tablet (Norvasc 10mg tablet, Pfizer, İstanbul, Türkiye)
- Ketamin flakon (Ketalar 500mg flakon, Pfizer, İstanbul, Türkiye)
- Xylazine (Rompun flakon, 10mg/kg, Bayer, İstanbul, Türkiye)
- Serum Fizyolojik (%0.9 NaCl 500ml'lik polifleks, Polifarma, Tekirdağ, Türkiye)

3.2 Yöntem

Çalışmanın bu kısmında tezin yöntemi açıklanacaktır. Grupların oluşturulması, biyokimyasal ve histopatolojik analiz için örnek temini,

biyokimyasal analiz, histopatolojik analiz, istatistiksel analiz gibi bir dizi yöntemin nasıl işletildiği hakkında bilgi verilecektir.

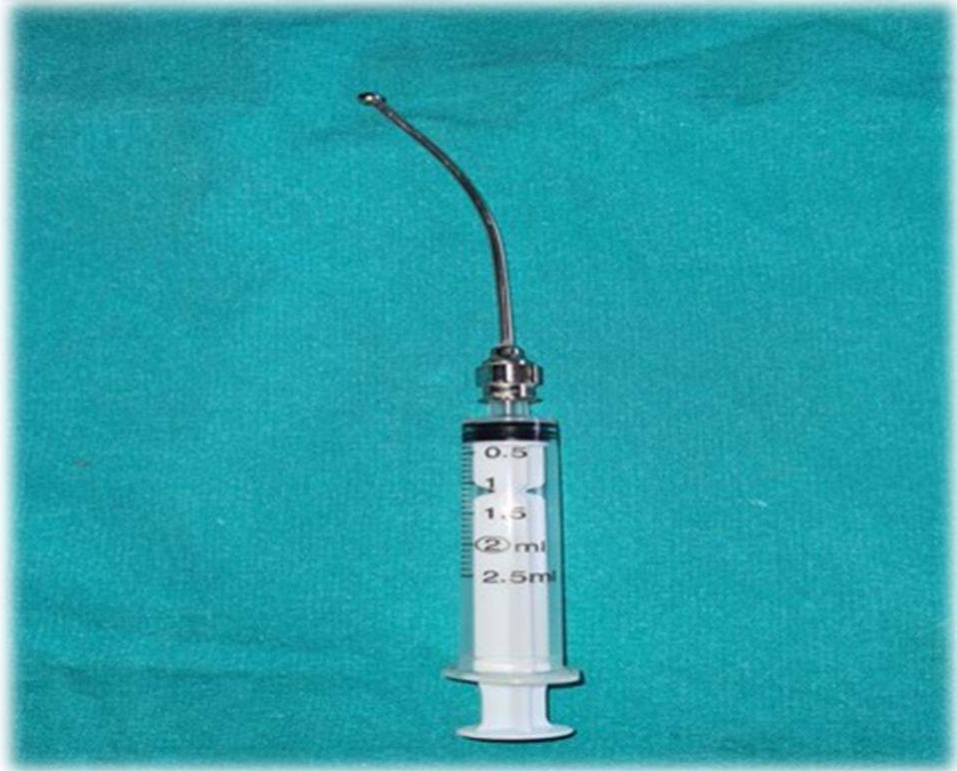
3.2.1 Grupların Oluşturulması

Deney hayvanları; kontrol grubu 7 rat, diğer tüm gruplarda 9'ar adet rat olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır.

1. Grup 1 (Kontrol): Birinci grup kontrol grubudur ve 0.3ml serum fizyolojik (sf) 10 gün boyunca orogastrik gavaj ile uygulanmıştır.
2. Grup 2 (KT): İkinci grupta kardiyotoksisite oluşturmak için sadece 7 gün boyunca 6mg/kg/gün dozunda Loperamid 0,3cc sf içinde çözündürülerek orogastrik gavaj ile uygulanmıştır. Loperamide bağlı kardiyak toksisite modeli oluşturulmuştur.
3. Grup 3 (KT + AN1): Üçüncü grupta 7 gün boyunca 6 mg/kg/gün Loperamid 0,3cc sf içinde çözündürülerek verilmiştir. Amlodipin de eş zamanlı 7 gün boyunca 5 mg/kg/gün dozunda 0,3cc sf içinde çözündürülerek orogastrik gavaj ile verilmiştir.
4. Grup 4 (KT + AN2): Dördüncü grupta 7 gün boyunca 6 mg/kg/gün Loperamid 0,3cc sf içinde çözündürülüp orogastrik gavaj ile verilerek kardiyotoksisite oluşturulmuştur. Amlodipin; kardiyotoksisite sonrası 3 gün boyunca (8-9-10.günler) 5mg/kg/gün dozunda 0,3cc sf içinde çözündürülerek orogastrik gavaj ile verilmiştir.
5. Grup 5 (KT + AN3): Beşinci grupta 7 gün boyunca 6 mg/kg/gün dozunda Loperamid ile birlikte Amlodipin, ilk 7 gün 5 mg/kg/gün dozunda 0,3cc sf içinde çözündürülerek orogastrik gavaj ile verilmiştir. Kardiyotoksisite oluştuktan sonraki 3 gün boyunca da sadece Amlodipin 5mg/kg/gün dozunda orogastrik gavaj ile verilmeye devam edilmiştir.



Fotoğraf 3.1. Euro Type 4 Kafes İçinde Barındırılan Deney Ratları.



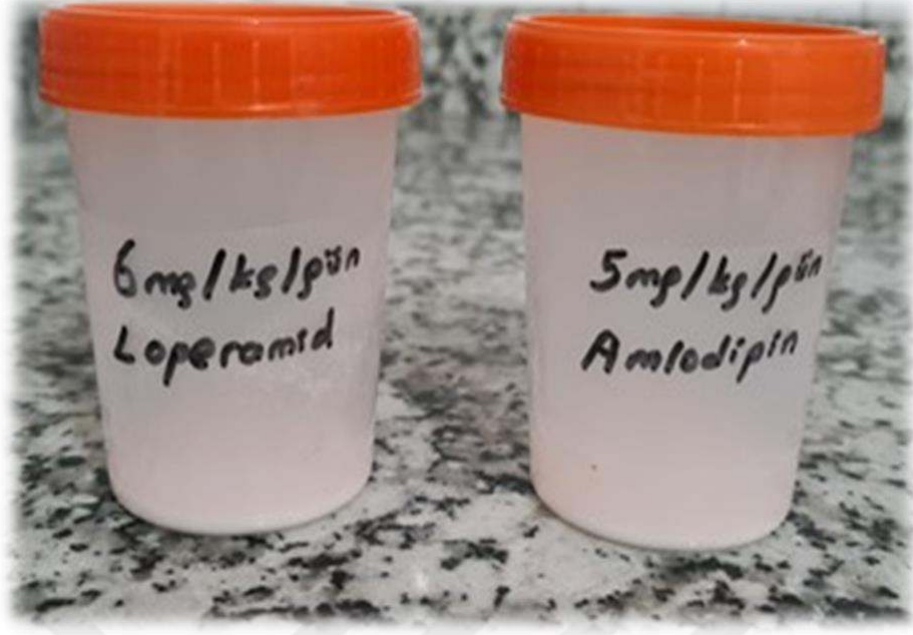
Fotoğraf 3.2. İlaç Uygulamada Kullanılan 16G Orogastrik Gavaj.



Fotoğraf 3.3. Ratlara Loperamid Uygulaması.



Fotoğraf 3.4. Kalp Dokuları Alınmak Üzere Sakrifiye Edilen Rat.



Fotoğraf 3.5. Taze Hazırlanan Loperamid ve Amlodipin Çözeltileri.

3.2.2 Biyokimyasal ve Histopatolojik Analiz İçin Örnek Temini

Grup 1; 11. gün, grup 2; 8. gün, Grup 3; 8. gün, Grup 4; 11. Gün ve Grup 5; 11. gün hayvanlar ketamin/ksilazin 90/10 mg/kg intramüsküler anestezi altında intrakardiyak punksiyon ile 5ml kan alınarak kurban edilmştir ve kalp dokuları alınmıştır. Alınan kalp örnekleri histopatolojik inceleme için %10 ‘luk formaldehit içinde fikse edilmek üzere saklanmıştır.

3.2.3 Biyokimyasal Analiz

Intrakardiyak punksiyon ile alınan kanlar biyokimya tüplerine aktarılmıştır. Kan numuneleri 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj uygulaması yapılarak biyokimya tüplerindeki ayrışan serum kısımları ependorf tüplerine aktarılmıştır. Biyokimyasal analiz işlemine kadar -80 C⁰’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Çalışma gününde derin dondurucudan çıkarılan serum örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra kardiyak hasar biyobelirteci olarak cTnI, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak MDA, serbest oksijen radikallerinden koruyucu olarak SOD ve CAT değerleri uygun rat Elisa kitleri kullanılarak BAİBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda üretici firmanın talimatları doğrultusunda belirlenmiştir. Sonuçlar sırasıyla; cTnI için

pg/ml, MDA için nmol/ml, SOD için ng/ml ve CAT için ng/ml cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.4 Histopatolojik Analiz

Ratlardan alınan kalp dokuları %10 luk formaldehit solüsyonunda fiksle edildikten sonra doku örnekleri takip kasetlerine aktarılmıştır. Dehidrasyon için artan konsantrasyonlarda (%70, %80, %90, %96, %100) alkol serilerinden geçirilerek Ksilan ile muamele edilip dokunun şeffaf hale gelmesi sağlanmıştır. Dokunun sertleşmesi için parafin bloklara gömülmüştür. Dokulardan mikrotom ile 3 mikrometre kalınlığında seri kesitler alınarak polilizinli lamlara aktarılmıştır. Boyama işlemi öncesi kesitler; deparafinizasyon için 65C⁰'de etüvde bekletilmiştir. Etüvden çıkarılıp ksilende bekletilen kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80, %70) geçirildikten sonra; kalp dokusundaki morfolojik değişiklikler için hematoksilin&Eozin (Hematoksilin: Beslab, lot: 01072016001- Eozin: Atomscientific, lot: RRSP37/E) ile boyanmıştır (158).

Kalp dokusu için yapılan incelemede; İnflamatuar hücre infiltrasyonu, nekroz, mast hücre yoğunluğu, miyokardiyal dejenerasyon, intrastoplazmik vakuolizasyon bakımından ışık mikroskobu altında (Nicon eclipse 80i) incelenmiştir. Bu morfolojik parametreler semikantitatif olarak 0-3 arasında skorlanmıştır. Değişiklik olmaması durumunda skor 0, hafif düzey hasar olması skor 1, orta düzey hasar olması skor 2, şiddetli hasar olması skor 3 olarak değerlendirilmiştir (159).

3.2.5 İstatistiksel Analiz

Araştırmamızda elde edilen bulgular değerlendirilirken SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences, version 25) istatistik programı kullanıldı. Normal dağılımı Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler sayısal değişkenler için ortanca, 25.p, 75.p., ortalama, standart sapma; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak verildi. Numerik veriler değerlendirilirken iki bağımsız grubun karşılaştırılmasında Bağımsız Örneklem T testi, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. (Post Hoc: LSD, Bonferroni). Normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında ise bu

yöntemlerin nonparametrik karşılığı olan Mann Whitney U ve Kruskal Wallis testlerinden yararlanıldı. $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Parametrelerdeki Bulgular

Çalışmada Kontrol, KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 grupları %20,59 (n=7), KT grubu %17,65 (n=6) oranına sahiptir.

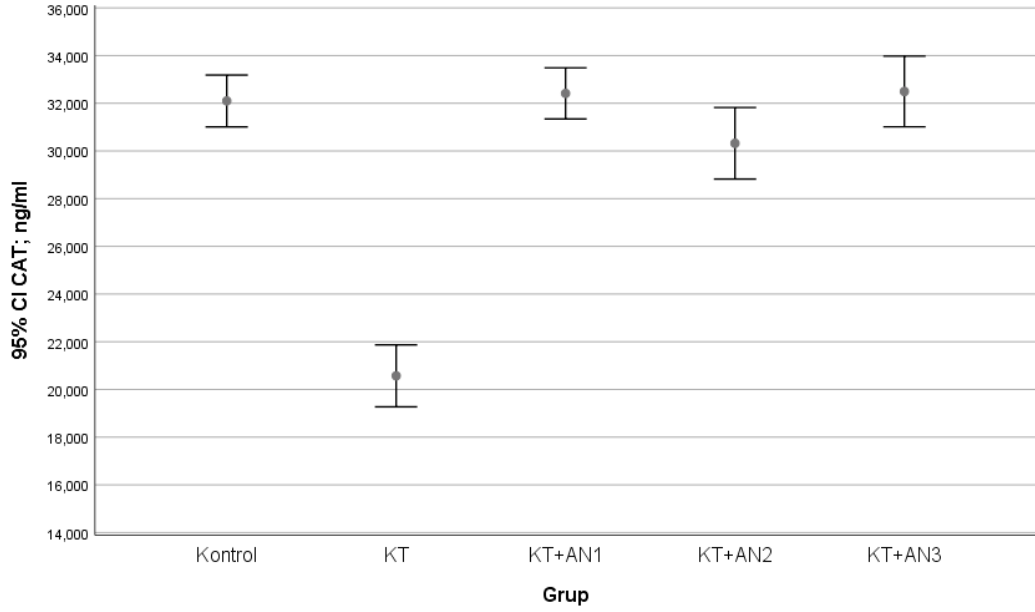
Tablo 4.1. Grupların Dağılımı.

	N (%)
Grup	
Kontrol	7 (20,59)
KT	6 (17,65)
KT+AN1	7 (20,59)
KT+AN2	7 (20,59)
KT+AN3	7 (20,59)

Tablo 4.2. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi.

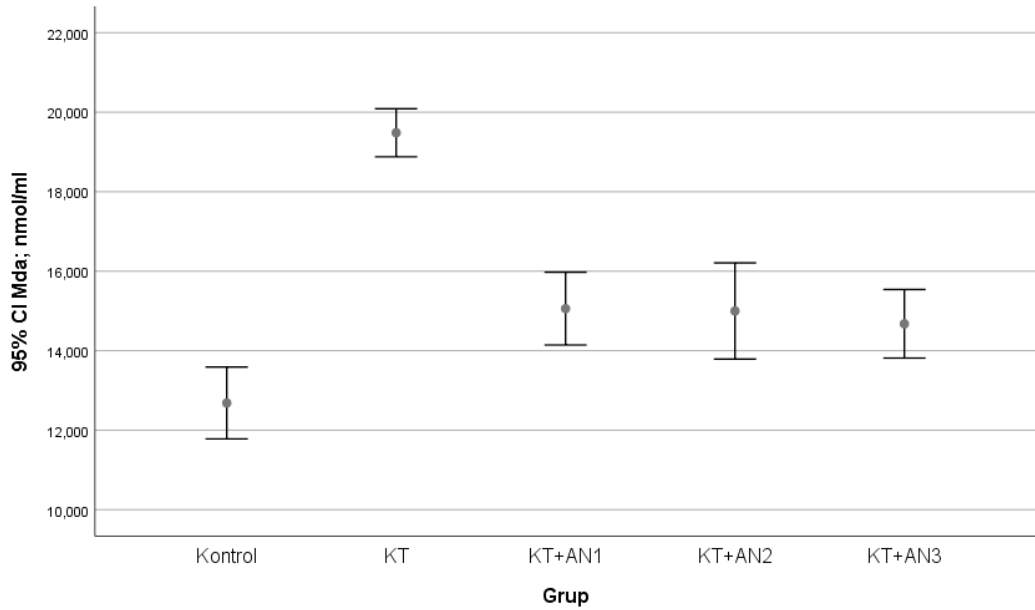
	Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3
CAT; ng/ml	32,1±1,18	20,57±1,24	32,41±1,16	30,32±1,62	32,49±1,6
MDA; nmol/ml	12,937 (12,708-13,233)	19,404 (18,937-20,08)	15,352 (14,059-15,538)	15,362 (13,652-16,199)	14,844 (14,08-15,478)
SOD; ng/ml	242,64±29,19	164,68±14,43	242,01±28,74	243,04±27,92	248,02±26,38
cTnI; pg/ml	183,32±22,76	280,05±10,78	234,92±41,83	244,88±49,25	232,57±31,18

Ort. ±Std. Sapma, Ortanca (25.p.-75.p.))



Şekil 4.1. Ratlarda Ölçülen Serum CAT Düzeyleri.

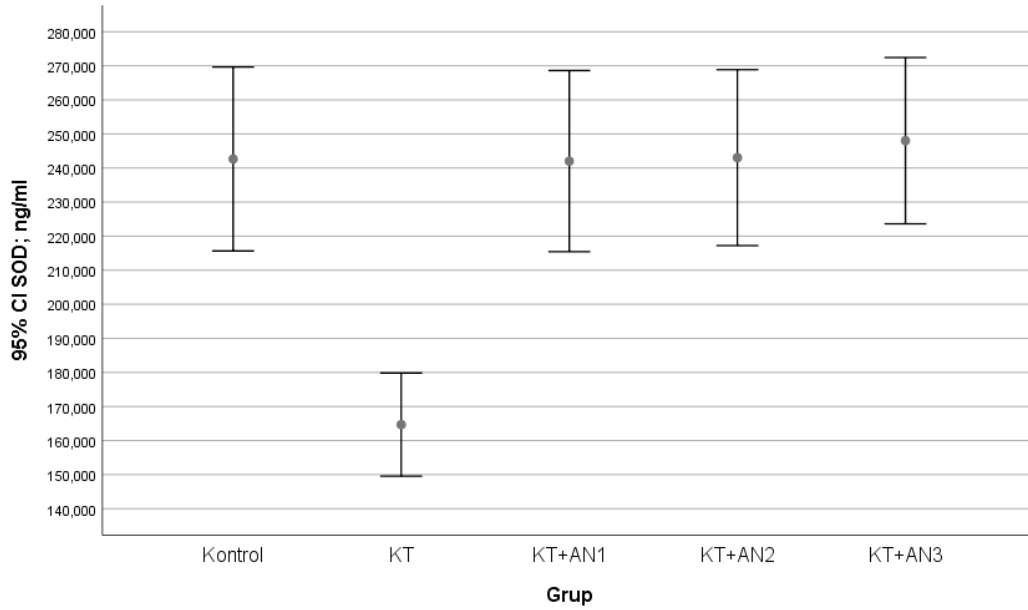
Çalışmada KT grubunun CAT düzeyi; Kontrol ($p<0,001$), KT+AN1 ($p<0,001$), KT+AN2 ($p<0,001$) ve KT+AN3 ($p<0,001$) gruplarının CAT düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde düşük saptandı. Bunların dışında Kontrol, KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 gruplarının CAT düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).



Şekil 4.2. Ratlarda Ölçülen Serum MDA Düzeyleri.

Çalışmada Kontrol grubunun MDA düzeyi; KT ($p<0,001$), KT+AN1 ($p=0,007$), KT+AN2 ($p=0,031$), KT+AN3 ($p=0,021$) gruplarının MDA düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde düşük saptandı.

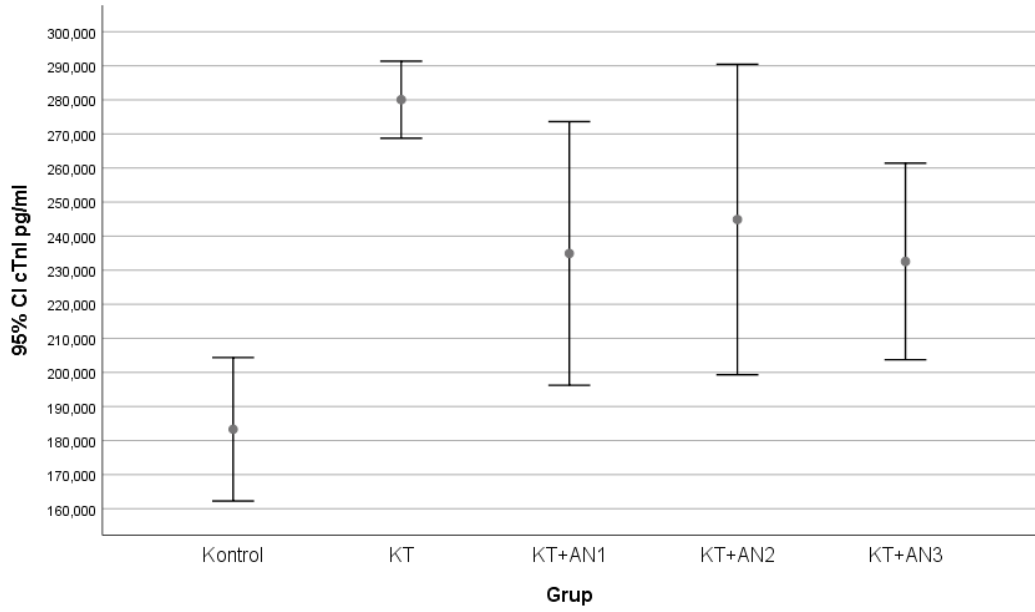
KT grubunun MDA düzeyi ise; KT+AN1 ($p<0,001$), KT+AN2 ($p<0,001$) ve KT+AN3 ($p<0,001$) gruplarının MDA düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde yüksekti. Bunların dışında KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 gruplarının MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).



Şekil 4.3. Ratlarda Ölçülen Serum SOD Düzeyleri.

Çalışmada KT grubunun SOD düzeyi; Kontrol ($p<0,001$), KT+AN1 ($p<0,001$), KT+AN2 ($p<0,001$) ve KT+AN3 ($p<0,001$) gruplarının SOD düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde düşük saptandı.

Kontrol, KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 gruplarının SOD düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).



Şekil 4.4. Ratlarda Ölçülen Serum cTnI Düzeyleri.

Çalışmada KT grubunun cTnI düzeyi; Kontrol ($p < 0,001$) grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki gözlenmedi ($p > 0,05$).

Çalışmada KT grubunda MDA ve CAT arasında negatif yönlü yüksek düzeyde, MDA ve SOD arasında pozitif yönlü yüksek düzeyde korelasyon saptandı ($p_1 = 0,042$, $r_1 = -0,829$; $p_2 = 0,042$, $r_2 = 0,829$).

KT+AN1 grubunda SOD ve cTnI arasında çok yüksek düzeyde pozitif yönlü korelasyon saptandı ($p = 0,002$, $r = 0,930$).

4.2 Histopatolojik Bulgular

Tüm deneklerin miyokardiyal dejenerasyon ortancası 2, vakuolizasyon ortancası 1, nekrozis ortancası 1, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ortancası 2, mast hücre yoğunluğu ortancası 1 olarak hesaplandı.

Tablo 4.3. Çalışmadaki Histopatolojik Özelliklerin Dağılımı.

Miyokardiyal dejenerasyon	2 (1-3)
Vakuolizasyon	1 (1-2)
Nekrozis	1 (1-2)
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	2 (1-2)
Mast hücre yoğunluğu	1 (0-2)

Ortanca (25. p – 75. p.)

Tablo 4.4. Miyokardiyal Dejenerasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.

			Grup					Total
			Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	
Miyokardiyal dejenerasyon	Yok	N	7	0	1	0	0	8
		%	100,0	0,0	14,3	0,0	0,0	23,5
	Hafif	N	0	2	2	1	3	8
		%	0,0	33,3	28,6	14,3	42,9	23,5
	Orta	N	0	1	4	2	1	8
		%	0,0	16,7	57,1	28,6	14,3	23,5
	Şiddetli	N	0	3	0	4	3	10
		%	0,0	50,0	0,0	57,1	42,9	29,4
	Total	N	7	6	7	7	7	34
		%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Çalışmada deneklerden Kontrol grubunun tümünde miyokardiyal dejenerasyon saptanmadı. KT grubunun %33,3'ünde (n=2) hafif, %16,7'sinde (n=1) orta ve %50'sinde (n=3) şiddetli miyokardiyal dejenerasyon olduğu belirlendi. KT+AN1 grubunun %14,3'ünde (n=1) miyokardiyal dejenerasyon saptanmadı. %28,6'sında (n=2) hafif, %57,1'inde (n=4) orta şiddette miyokardiyal dejenerasyon olduğu belirlendi. KT+AN2 grubunun %14,3'ünde (n=1) hafif, %28,6'sında (n=2) orta, %57,1'inde (n=4) şiddetli miyokardiyal dejenerasyon olduğu belirlendi. KT+AN3 grubunun %42,9'unda (n=3) hafif, %14,3'ünde (n=1) orta, %42,9'unda (n=3) şiddetli miyokardiyal dejenerasyon olduğu belirlendi.

Tablo 4.5. Grupların Vakuolizasyon Düzeylerinin Karşılaştırılması.

			Grup					Total
			Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	
Vakuolizasyon	Yok	N	5	0	1	0	1	7
		%	71,4	0,0	14,3	0,0	14,3	20,6
	Hafif	N	2	1	4	3	3	13
		%	28,6	16,7	57,1	42,9	42,9	38,2
	Orta	N	0	3	1	3	2	9
		%	0,0	50,0	14,3	42,9	28,6	26,5
	Şiddetli	N	0	2	1	1	1	5
		%	0,0	33,3	14,3	14,3	14,3	14,7
	Total	N	7	6	7	7	7	34
		%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Kontrol grubunun %71,4'ünde (n=5) vakuolizasyon saptanmazken %28,6'sında (n=2) hafif şiddette vakuolizasyon saptandı. KT grubunun %16,7'sinde (n=1) hafif, %50'sinde (n=3) orta, %33,3'ünde (n=2) şiddetli vakuolizasyon saptandı. KT+AN1 grubunun %14,3'ünde (n=1) vakuolizasyon saptanmadı. %57,1'inde (n=4) hafif, %14,3'ünde (n=1) orta, %14,3'ünde şiddetli vakuolizasyon saptandı. KT+AN2 grubunun %42,9'unda (n=3) hafif ve orta, %14,3'ünde (n=1) şiddetli vakuolizasyon saptandı. KT+AN3 grubunun %14,3'ünde (n=1) vakuolizasyon saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif, %28,6'sında (n=2) orta, %14,3'ünde (n=1) şiddetli vakuolizasyon saptandı.

Tablo 4.6. Grupların Nekrozis Düzeylerinin Karşılaştırılması.

			Grup					Total
			Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	
Nekrozis	Yok	N	4	0	1	0	1	6
		%	57,1	0,0	14,3	0,0	14,3	17,6
	Hafif	N	3	0	3	3	3	12
		%	42,9	0,0	42,9	42,9	42,9	35,3
	Orta	N	0	2	3	2	3	10
		%	0,0	33,3	42,9	28,6	42,9	29,4
	Şiddetli	N	0	4	0	2	0	6
		%	0,0	66,7	0,0	28,6	0,0	17,6
	Total	N	7	6	7	7	7	34
		%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Kontrol grubunun %57,1'inde (n=4) nekrozis saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif şiddette nekrozis saptandı. KT grubunun %33,3'ünde (n=2) orta, %66,7'sinde (n=4) şiddetli nekrozis saptandı. KT+AN1 grubunun %14,3'ünde (n=1) nekrozis saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif ve orta şiddette nekrozis saptandı. KT+AN2 grubunun %42,9'unda (n=3) hafif, %28,6'sında (n=2) orta ve şiddetli nekrozis saptandı. KT+AN3 grubunun %14,3'ünde (n=1) nekrozis saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif ve orta şiddette nekrozis saptandı.

Tablo 4.7. Grupların İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu Düzeylerinin Karşılaştırılması.

			Grup					Total
			Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	Yok	N	4	1	2	0	1	8
		%	57,1	16,7	28,6	0,0	14,3	23,5
	Hafif	N	3	1	3	0	2	9
		%	42,9	16,7	42,9	0,0	28,6	26,5
	Orta	N	0	3	2	2	2	9
		%	0,0	50,0	28,6	28,6	28,6	26,5
	Şiddetli	N	0	1	0	5	2	8
		%	0,0	16,7	0,0	71,4	28,6	23,5
	Total	N	7	6	7	7	7	34
		%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Kontrol grubunun %57,1'inde (n=4) inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif şiddette inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. KT grubunun %16,7'sinde (n=1) inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanmazken %16,7'sinde (n=1) hafif, %50'sinde (n=3) orta ve %16,7'sinde (n=1) şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. KT+AN1 grubunun %28,6'sında (n=2) inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif, %28,6'sında (n=2) orta şiddette inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. KT+AN2 grubunun %28,6'sında (n=2) orta, %71,4'ünde (n=5) şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı. KT+AN3 grubunun %14,3'ünde (n=1) inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptanmazken %28,6'sında (n=2) hafif, orta ve şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu saptandı.

Tablo 4.8. Grupların Mast Hücre Yoğunluğu Düzeylerinin Karşılaştırılması.

			Grup					
			Kontrol	KT	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	Total
Mast hücre Yoğunluğu	Yok	N	6	2	4	0	3	15
		%	85,7	33,3	57,1	0,0	42,9	44,1
	Hafif	N	1	0	3	3	1	8
		%	14,3	0,0	42,9	42,9	14,3	23,5
	Orta	N	0	3	0	3	3	9
		%	0,0	50,0	0,0	42,9	42,9	26,5
	Şiddetli	N	0	1	0	1	0	2
		%	0,0	16,7	0,0	14,3	0,0	5,9
Total	N	7	6	7	7	7	34	
	%	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

Kontrol grubunun %85,7'sinde (n=6) mast hücre yoğunluğu saptanmazken %14,3'ünde (n=1) hafif şiddette mast hücre yoğunluğu gözlemlendi. KT grubunun %33,3'ünde (n=2) mast hücre yoğunluğu saptanmazken %50'sinde (n=3) orta, %16,7'sinde (n=1) şiddetli mast hücre yoğunluğu saptandı. KT+AN1 grubunun %57,1'inde (n=4) mast hücre yoğunluğu saptanmazken %42,9'unda (n=3) hafif şiddette mast hücre yoğunluğu saptandı. KT+AN2 grubunun %42,9'unda (n=3) hafif ve orta, %14,3'ünde (n=1) şiddetli mast hücre yoğunluğu saptandı. KT+AN3 grubunun %42,9'unda (n=3) mast hücre yoğunluğu saptanmazken %14,3'ünde (n=1) hafif, %42,9'unda (n=3) orta şiddette mast hücre yoğunluğu saptandı.

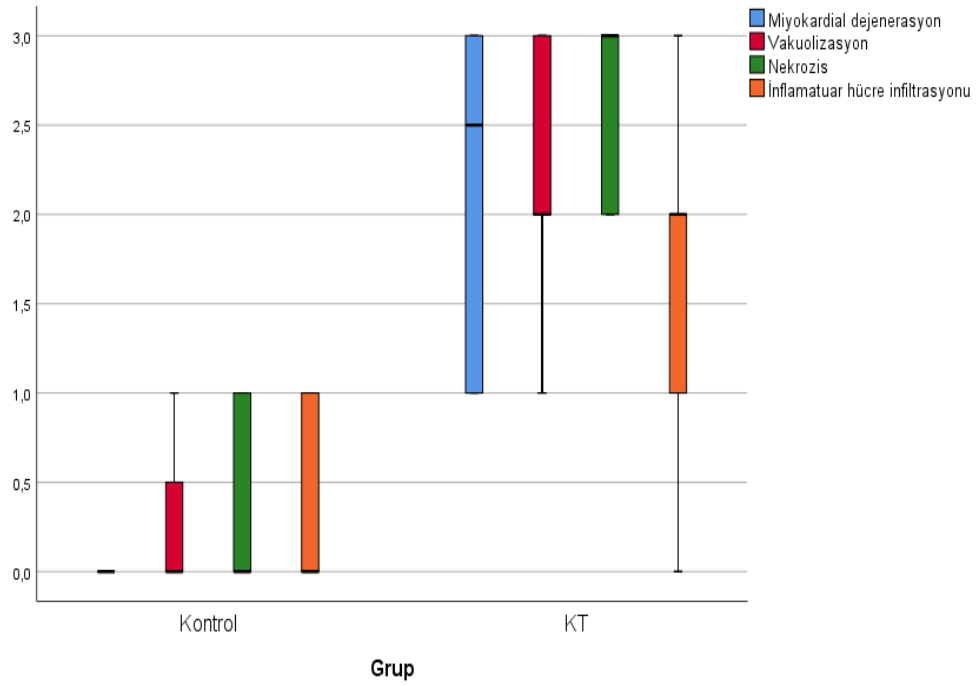
Tablo 4.9. Kontrol ve KT Grubunun Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	Kontrol	KT	
Miyokardiyal dejenerasyon	0 (0-0)	3 (1-3)	^a 0,001**
Vakuolizasyon	0 (0-1)	2 (2-3)	^a 0,002**
Nekrozis	0 (0-1)	3 (2-3)	^a 0,001**
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-1)	2 (1-2)	^a 0,035*
Mast hücre yoğunluğu	0 (0-0)	2 (0-2)	^a 0,073

Ortanca (25. p – 75. p.)

^aMann Whitney U test

*p<0,05 **p<0,01



Şekil 4.5. Kontrol ve KT Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri.

KT grubunun miyokardiyal dejenerasyon, vakuolizasyon, nekrozis ve inflamatuvar hücre infiltrasyon düzeyi; Kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,05$).

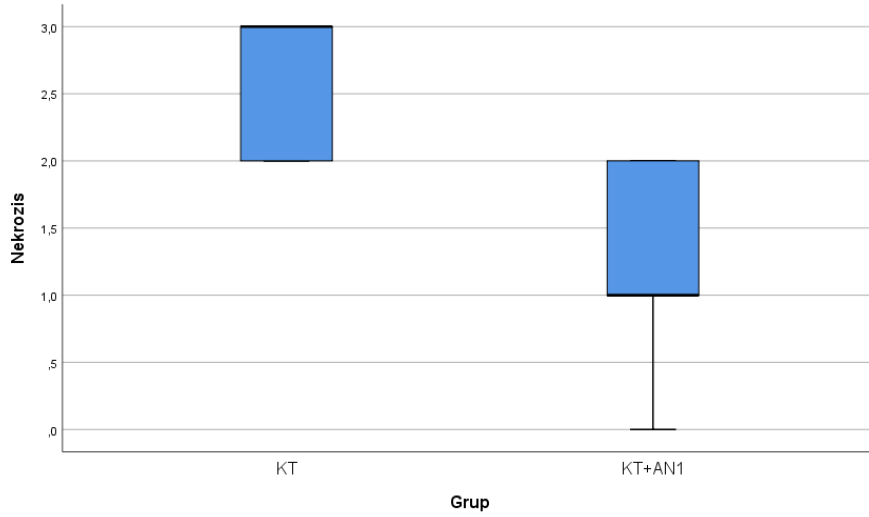
Tablo 4.10. KT ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	KT	KT+AN1	
Miyokardiyal dejenerasyon	3 (1-3)	2 (1-2)	^b 0,234
Vakuolizasyon	2,17±0,75	1,29±0,95	^a 0,095
Nekrozis	3 (2-3)	1 (1-2)	^b 0,008**
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	1,67±1,03	1±0,82	^a 0,220
Mast hücre yoğunluğu	2 (0-2)	0 (0-1)	^b 0,138

Ort.±Std. Sapma, Ortanca (25. p – 75. p.) * $p < 0,01$

^aBağımsız Örneklem t test

^bMann Whitney U test



Şekil 4.6. KT ve KT+AN1 Gruplarının Nekrozis Düzeyleri.

KT grubunun nekrozis düzeyi KT+AN1 grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p < 0,01$).

Tablo 4.11. KT ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	KT	KT+AN2	
Miyokardiyal dejenerasyon	3 (1-3)	3 (2-3)	^b 0,731
Vakuolizasyon	2,17±0,75	1,71±0,76	^a 0,304
Nekrozis	3 (2-3)	2 (1-3)	^b 0,138
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	2 (1-2)	3 (2-3)	^b 0,051
Mast hücre yoğunluğu			^a 0,707
	1,5±1,22	1,71±0,76	

Ort.±Std. Sapma, Ortanca (25. p – 75. p.)

^aBağımsız Örneklem t test

^bMann Whitney U test

Çalışmada KT ve KT+AN2 gruplarının histolojik özellikleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p > 0,05$).

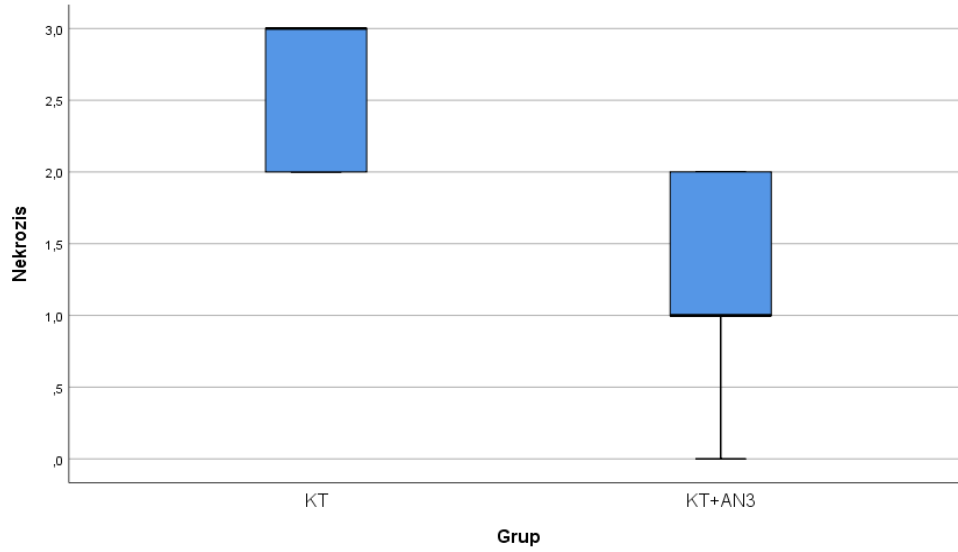
Tablo 4.12. KT ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	KT	KT+AN3	
Miyokardiyal dejenerasyon	3 (1-3)	2 (1-3)	^b 0,836
Vakuolizasyon	2,17±0,75	1,43±0,98	^a 0,160
Nekrozis	3 (2-3)	1 (1-2)	^b 0,008**
İnflamatuar hücre infiltrasyonu	1,67±1,03	1,71±1,11	^a 0,938
Mast hücre yoğunluğu	2 (0-2)	1 (0-2)	^b 0,445

Ort.±Std. Sapma, Ortanca (25. p – 75. p.) **p<0,01

^aBağımsız Örneklem t test

^bMann Whitney U test



Şekil 4.7. KT ve KT+AN3 Gruplarının Nekrozis Düzeyleri.

KT grubunun nekrozis düzeyi, KT+AN3 grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p<0,01).

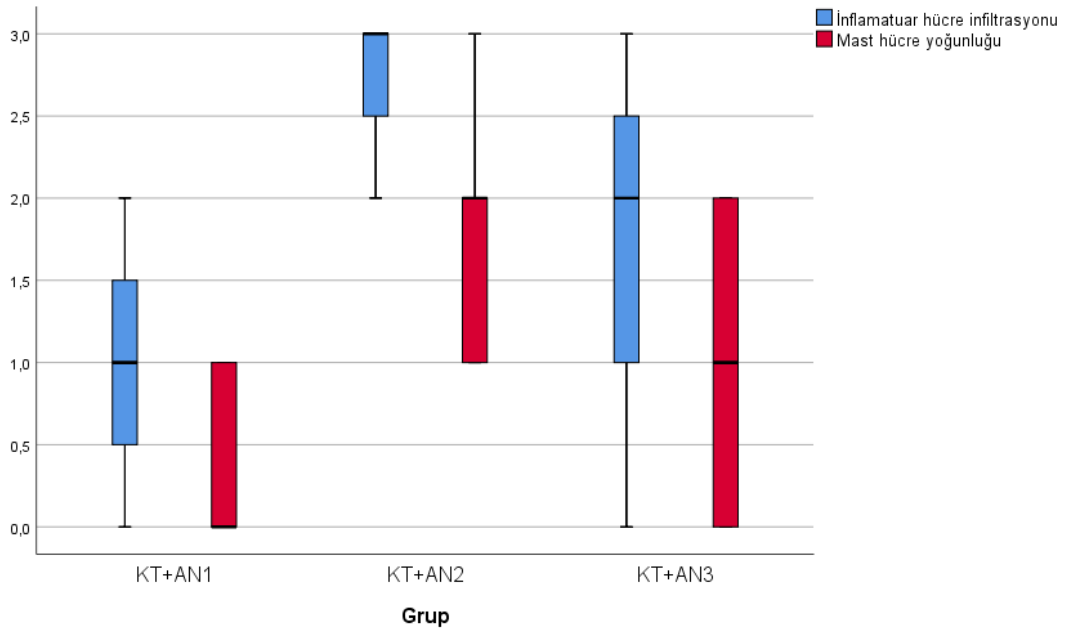
Tablo 4.13. KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup			P
	KT+AN1	KT+AN2	KT+AN3	
Miyokardiyal dejenerasyon	2 (1-2)	3 (2-3)	2 (1-3)	^a 0,130
Vakuolizasyon	1,29±0,95	1,71±0,76	1,43±0,98	^b 0,669
Nekrozis	1,29±0,76	1,86±0,9	1,29±0,76	^b 0,333
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	1 (0-2)	3 (2-3)	2 (1-3)	^a 0,009 **
Mast hücre yoğunluğu	0 (0-1)	2 (1-2)	1 (0-2)	^a 0,033 *

^aKruskal Wallis test

^bTek yönlü varyans analizi

* $p<0,05$ ** $p<0,01$



Şekil 4.8. KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özellikleri.

KT+AN2 grubunun inflamatuvar hücre infiltrasyonu düzeyi, KT+AN1 ve KT+AN3 grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,01$).

KT+AN2 grubunun mast hücre yoğunluğu düzeyi, KT+AN1 grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,05$).

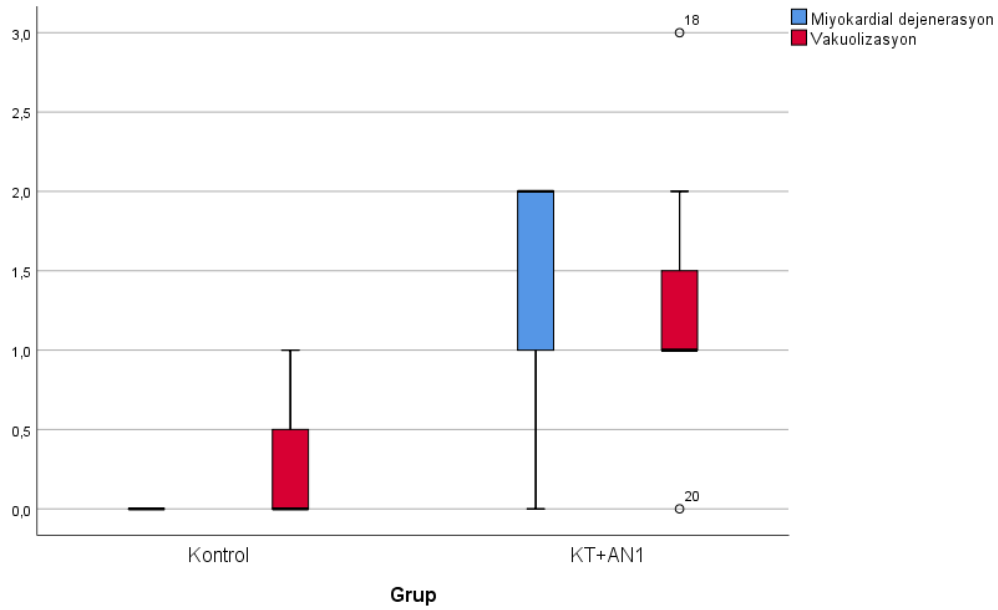
KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 grupları arasında miyokardiyal dejenerasyon, vakuolizasyon ve nekrozis düzeyleri istatistiksel anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Tablo 4.14. Kontrol ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	Kontrol	KT+AN1	
Miyokardiyal dejenerasyon	0 (0-0)	2 (1-2)	^a 0,004**
Vakuolizasyon	0 (0-1)	1 (1-2)	^a 0,038*
Nekrozis	0 (0-1)	1 (1-2)	^a 0,053
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-1)	1 (0-2)	^a 0,209
Mast hücre yoğunluğu	0 (0-0)	0 (0-1)	^a 0,383

Ortanca (25. p – 75. p.) * $p<0,05$ ** $p<0,01$

^aMann Whitney U test



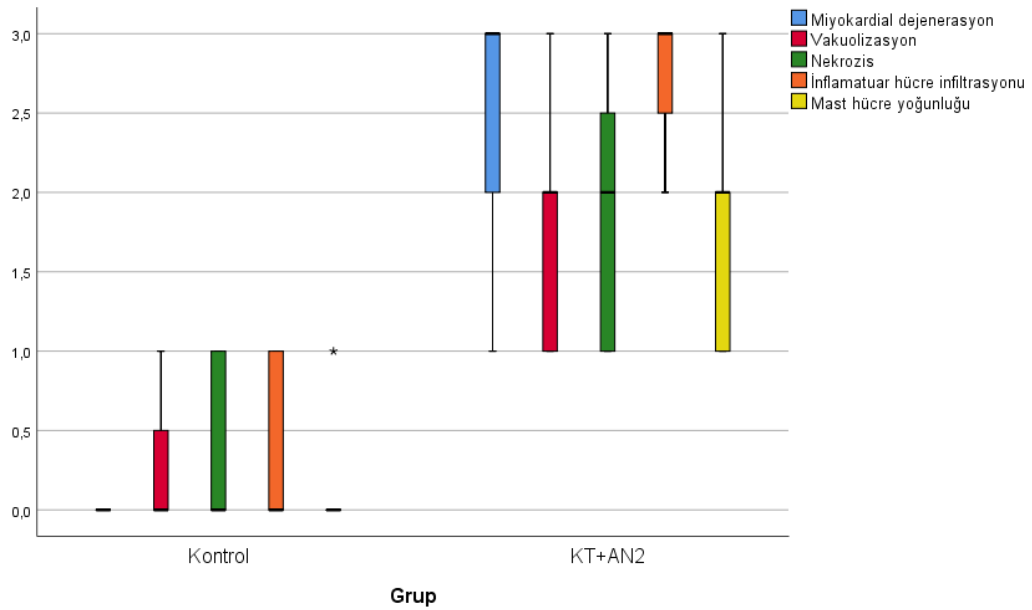
Şekil 4.9. Kontrol ve KT+AN1 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri.

Kontrol grubunun miyokardiyal dejenerasyon ve vakuolizasyon düzeyi KT+AN1 grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0,05$). Bu gruplar arasında nekrozis, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve mast hücre yoğunluğu açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.15. Kontrol ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

	Grup		p
	Kontrol	KT+AN2	
Miyokardiyal dejenerasyon	0 (0-0)	3 (2-3)	^a 0,001*
Vakuolizasyon	0 (0-1)	2 (1-2)	^a 0,004*
Nekrozis	0 (0-1)	2 (1-3)	^a 0,007*
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-1)	3 (2-3)	^a 0,001*
Mast hücre yoğunluğu	0 (0-0)	2 (1-2)	^a 0,001*

Ortanca (25. p – 75. p.) * $p<0,01$
^aMann Whitney U test



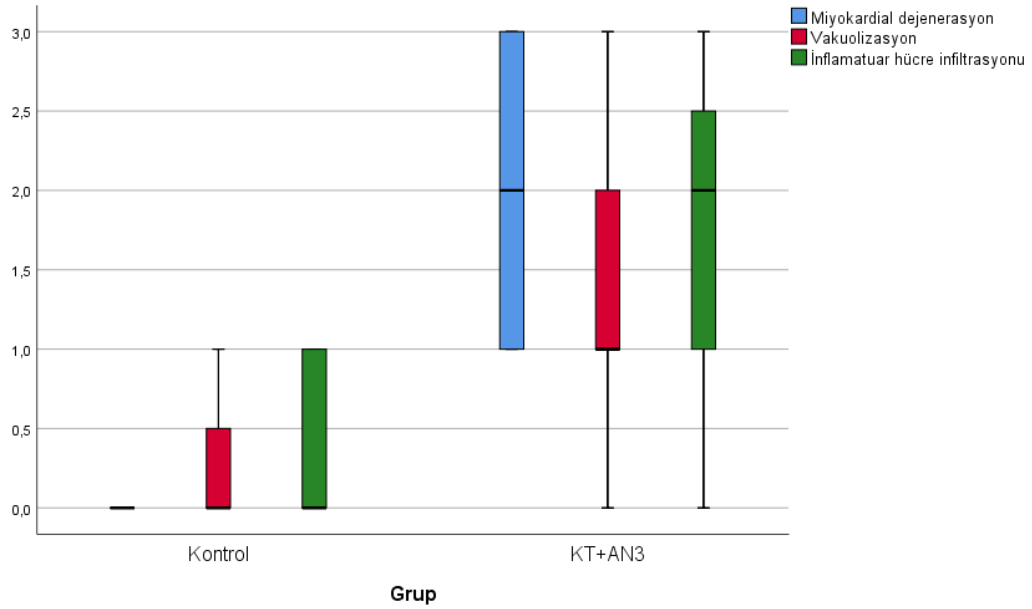
Şekil 4.10. Kontrol ve KT+AN2 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri.

KT+AN2 grubunun miyokardiyal dejenerasyon, vakuolizasyon, nekrozis, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve mast hücre yoğunluğu düzeyleri Kontrol grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,05$).

Tablo 4.16. Kontrol ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması.

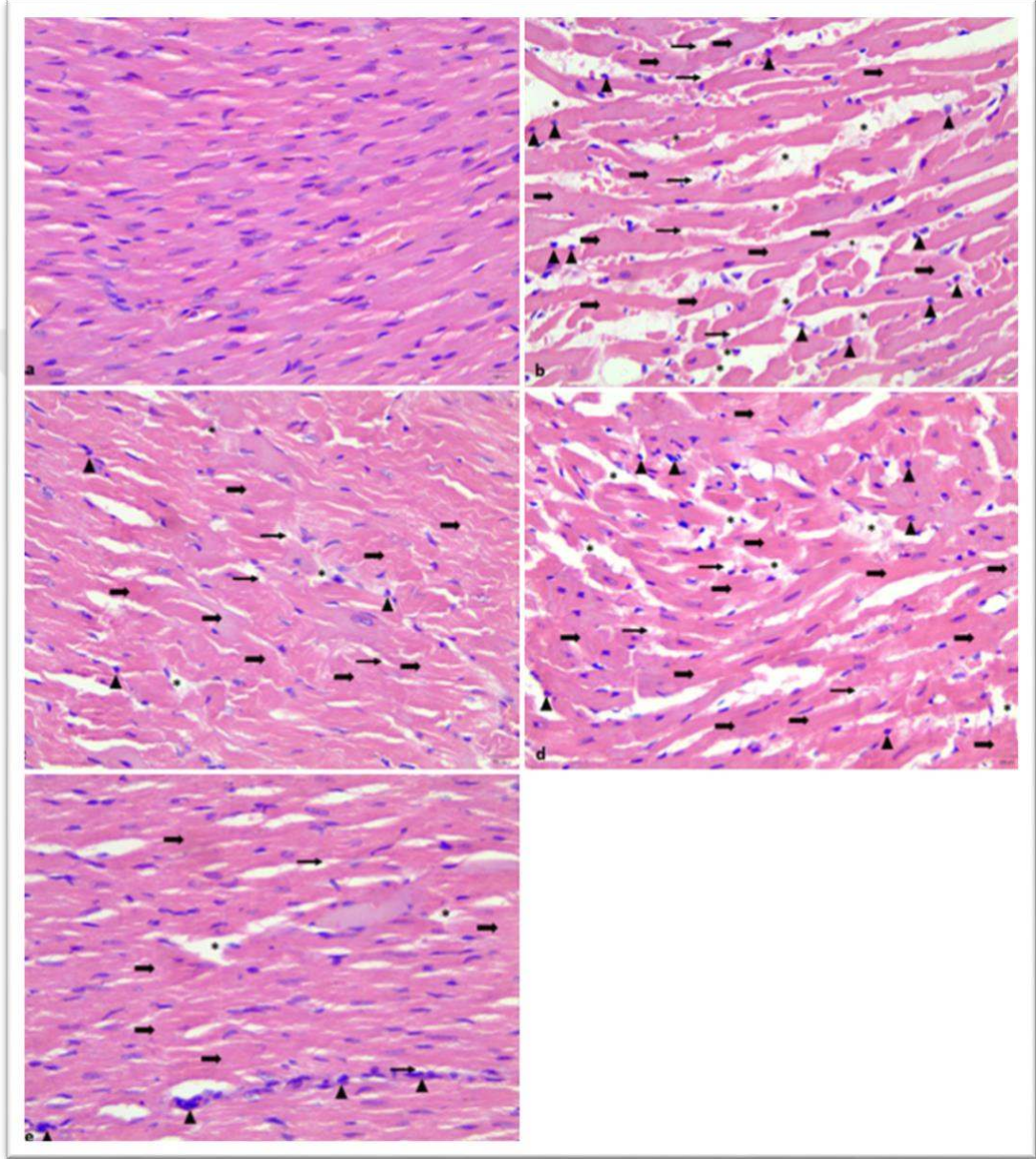
	Grup		p
	Kontrol	KT+AN3	
Miyokardiyal dejenerasyon	0 (0-0)	2 (1-3)	^a 0,001**
Vakuolizasyon	0 (0-1)	1 (1-2)	^a 0,026*
Nekrozis	0 (0-1)	1 (1-2)	^a 0,053
İnflamatuvar hücre infiltrasyonu	0 (0-1)	2 (1-3)	^a 0,038*
Mast hücre yoğunluğu	0 (0-0)	1 (0-2)	^a 0,128

Ortanca (25. p – 75. p.) * $p<0,05$ ** $p<0,01$
^aMann Whitney U test



Şekil 4.11. Kontrol ve KT+AN3 Gruplarının Histopatolojik Özelliklerinin Düzeyleri.

KT+AN3 grubunun miyokardiyal dejenerasyon, vakuolizasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu düzeyleri Kontrol grubundan istatistiksel anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,05$).



Şekil 4.12. Rat Miyokardındaki Histopatolojik Görüntüler. Normal Histolojik Görünüm (a); KT Grubu (b); KT+AN1 Grubu (c); KT+AN2 Grubu (d); KT+AN3 grubu (e). Miyokardiyal Dejenerasyon (*), Inflamatuvar Hücre Infiltrasyonu (ok başı), Nekrozis (kalın ok), Vakuolizasyon (ince ok) H&E boyama, X400 Büyütme.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada loperamidin kötüye kullanımıyla ilişkilendirilen kardiyotoksisiteyi desteklemek için biyokimyasal ve histolojik kanıtlar sunarken, loperamidin tetiklediği kardiyotoksisiteyi önlemek ve tedavi etmek için kalsiyum kanal blokeri olan amlodipinin etkisi araştırıldı.

Çalışmada, daha önceki deneysel çalışmalar baz alınarak ratlara 6mg/kg/gün dozunda 7 gün boyunca loperamid verildi (7,160). Yapılan deneysel çalışmalarda ratlarda loperamidin akut toksik etkisinin ilk bir haftada ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (7,160). Çalışmada loperamide bağlı kardiyotoksisitenin bulguları iki farklı yöntemle araştırıldı. Biyokimyasal olarak; serumda cTnI, MDA, SOD ve CAT düzeyleri belirlendi. Histopatolojik olarak; miyokardiyal dejenerasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mast hücre yoğunluğu, nekroz ve intrastoplazmik vakuolizasyon gibi morfolojik parametrelerin düzeyi incelendi. Bu çalışmamızda loperamid uygulanan ratların serumlarında incelenen biyokimyasal parametreler ve ratların kalp dokularında incelenen histopatolojik parametreler doğrultusunda kardiyotoksisite oluştuğunu gözlemledik.

Çalışmamızda amlodipinin koruyucu etkisini araştırmak için; daha önce yapılan deneysel çalışmalar örnek alınarak 7 gün boyunca 5mg/kg/gün dozunda verilmiştir (10,161). Tedavi edici olarak ratlara amlodipin 3 gün boyunca 5mg/kg/gün dozunda uygulanmıştır (161). Amlodipinin loperamidle birlikte uygulandığı ratlarda; kardiyotoksisiteyi önleme ve tedavi etmede bazı biyokimyasal parametrelerde iyileşme sağlarken, bazı histopatolojik parametrelerde azalma sağlayarak etkili olduğunu gözlemledik.

Loperamid, ishal tedavisinde kullanılan bir μ -opioid reseptör agonistidir ve genellikle önerilen dozlarda kullanıldığında SSS ve sistemik dolaşımda göz ardı edilebilir konsantrasyonlara ulaşır (162). Daha büyük dozlarla kötüye kullanıldığında, loperamid, sitokrom P450 inaktivasyonu ve P-glikoprotein dışarı akış sistemi tarafından aracılık edilen koruyucu ilk geçiş metabolizmasını aşabilir ve sonucunda öfori, opioid yoksunluk belirtilerinin hafifletilmesi ve kardiyotoksisite gibi sistemik etkilere yol açabilir (163).

Kardiyotoksisite genellikle nabızsız arrestten, malign ventriküler ritimlere kadar değişen ritim bozuklukları ile birlikte EKG üzerinde dinamik değişikliklere yol açar (164). Şu anda loperamid kötüye kullanımının ileti bozukluklarına nasıl

yol açtığı mekanizması bilinmemektedir (165). Loperamidin aritmojenik toksisitesinin gözlemleri, daha fazla mekanistik çalışmalara yol açmıştır (162).

Literatür taraması yapıldığında, vakaların çoğunluğunda QRS kompleksi ve QT aralığının uzamasının her ikisi de görülmektedir. Loperamidin kardiyak K^+ kanallarını ve düz kas kalsiyum kanallarını engellediğine dair kanıtlar bulunsun da, QRS genişlemesinden sorumlu olan nedenin kardiyak Na^+ kanallarına olan etkileri olduğu düşünülmektedir (165).

Marraffa, kardiyotoksitenin, hERG voltaj kapılı K^+ kanalının ($Kv11.1$) antagonizması sonucunda meydana geldiğini hipotez etmiştir (34). Ayrıca, Marraffa ve daha sonra Enakpene, loperamidin ventriküler AP'nin faz 0'da hızlı depolarizasyonundan sorumlu $NaV1.5$ kanalını inhibe etme yeteneğini öngörmüştür ve bu durumun sonucu olarak gelişen geniş QRS kompleksini açıklığa kavuşturmuşlardır (34,166).

Kendi çalışmamızda örnek aldığımız Olofinsan ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir çalışmada; ratlarda loperamide bağlı kardiyotoksiste modeli oluşturulmuştur. Ratlara 7 gün boyunca tekrarlanan oral loperamid uygulamasını takiben, doza bağlı bir şekilde serumda cTnI konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdığı gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Ratların kalplerindeki antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri, kontrol grubundaki ratlarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$). Kontrol grubundaki ratlara kıyasla, loperamid verilen ratların kalplerinde MDA seviyeleri doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde artmıştır ($P<0.05$). Histopatolojik olarak ratların kardiyak dokusu incelendiğinde; özellikle 6 mg/kg/gün dozunda loperamid uygulanan ratlarda nekroz, inflamasyon ve miyokardiyal kaslarının ayrışması görülmüştür (7).

Kardiyak troponinler; miyokard nekrozunun biyokimyasal tanısında şuanda rutin altın standarttır ve akut koroner sendromlu hastalarda ve diğer durumlarda önemli bir tanısal ve prognostik değere sahiptir (167). Kardiyak hastalığın klinik bir biyobelirteci olarak kardiyak troponinlerin kullanımı, kararsız anjina ve minimal infarkt, sol ventrikül hipertrofisi, konjestif kalp yetmezliği, pulmoner emboli, künt travma, sepsis, orta derecede böbrek hastalığı ve böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, kanser ilaçları ve semptomimetiklerle ilişkilendirilen kardiyotoksiste dahil olmak üzere, kardiyak hasara sahip birçok patolojiyi içerecek şekilde önemli ölçüde genişletilmiştir (168).

Loperamid kaynaklı kardiyotoksisite ile ilişkilendirilen kardiyak aritmilerde, serum kardiyak troponin düzeyinin yükseldiği görülmüştür (169,170). Çalışmamızda 7 gün boyunca sadece loperamid verilen KT grubunun serum cTnI düzeyi Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı ($p<0,001$). Bu durum loperamidin kardiyotoksik etkisini kanıtlar niteliğindedir. Serum kardiyak troponin düzeyi yüksekliği, hücre sağlığı için kritik olan mitokondriyal fonksiyon, hücrel kalsiyum dengesi, seçici membran geçirgenliği ve oksidan/antioksidan denge gibi hücrel sağlık için kritik olan subsellüler süreçlerle etkileşim sonucunda meydana geldiği düşünülebilir (168).

ROS ‘un yüksek dozları veya yetersiz ROS uzaklaştırılması, oksidatif stresin ortaya çıkmasına neden olabilir, bu da ciddi metabolik bozukluklara ve biyolojik makromoleküllerin hasar görmesine yol açabilir. SOD ve CAT gibi bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu metabolitlerin hem aktiviteleri hem de hücrel seviyeleri arasında bir etkileşim vardır, bu da kendilerini oksijen toksisitesinden korumaya yardımcı olur (171).

SOD, yüksek reaktif olan $O_2^{\bullet-}$ radikalini daha az reaktif olan H_2O_2 ’ye dönüştürür (171). H_2O_2 , aerobik organizmalarda katalaz ve birkaç peroksidaz tarafından enzimatik olarak katabolize edilir. Katalaz, hücreleri içlerinde oluşan H_2O_2 ’den kaynaklanan zararlardan korur (172).

Vücutta bulunan MDA, iki kaynaktan gelir: tüketilen yiyecekler ve dokularda meydana gelen lipid peroksidasyonu. MDA oluşumu ve yaşayan organizmaların dokularındaki lipid oksidasyonunun ölçeği ve hızı, bir dizi endojen ve eksojen faktörlerden etkilenir. MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri oksidatif strese karşı hücreleri savunan enzimleri inhibe eder (173).

Kalender ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı deneysel bir çalışmada; İdarubisin nedenli kardiyotoksisite sonucu, ratların kalp dokusunda antioksidan enzim sistemi incelenerek antioksidan enzimlerden SOD ve CAT ile lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyi araştırılmıştır. İdarubisin verilen grupta; kontrol grubuna göre SOD ve CAT aktivitesi anlamlı düzeyde azalırken, MDA aktivitesi yüksek saptanmıştır ($P<0.05$) (174).

Kanter ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı deneysel bir çalışmada, doksorubisin kaynaklı kardiyotoksisitede egzersiz eğitiminin antioksidan enzimler üzerindeki etkisini araştırmıştır. Serumda ölçülen SOD ve CAT düzeyleri

doksorubisin verilen gruplarda, verilmeyenlere göre anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($P<0.05$) (175).

Loperamid tedavisi gören ratların bağırsak ve jejunum bölgelerinde, reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonundan sorumlu olan SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin düzeylerinin düşük olduğu rapor edilmektedir (176).

Bizim çalışmamızda 7 gün boyunca sadece loperamid verilerek kardiyotoksisite oluşturulan KT grubunda ($164,68\pm14,43$) serum SOD düzeyi; Kontrol ($242,64\pm29,19$), KT+AN1 ($242,01\pm28,74$), KT+AN2 ($243,04\pm27,92$) ve KT+AN3 ($248,02\pm26,38$) grubunun serum SOD düzeyleriyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0,001$).

Çalışmada KT grubu ($20,57\pm1,24$) serum CAT düzeyi; Kontrol ($32,1\pm1,18$), KT+AN1 ($32,41\pm1,16$), KT+AN2 ($30,32\pm1,62$) ve KT+AN3 ($32,49\pm1,6$) grubunun serum CAT düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde düşük saptandı ($p<0,001$).

Hiçbir ilaç uygulaması yapılmayan Kontrol grubu [$12,937(12,708-13,233)$] serum MDA düzeyi; KT [$19,404(18,937-20,08)$], KT+AN1 [$15,352(14,059-15,538)$], KT+AN2 [$15,362(13,652-16,199)$] ve KT+AN3 [$14,844(14,08-15,478)$] grubunun serum MDA düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde düşük saptandı. KT grubunun serum MDA düzeyi ise KT+AN1, KT+AN2 ve KT+AN3 grubunun serum MDA düzeylerinden istatistiksel anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,001$).

Bu bulgular neticesinde; sadece loperamid ile tedavi edilen ratların serumlarında antioksidan enzimlerden SOD ve CAT'ın düzeylerinde azalma gözlemledik. Bu durum; loperamidin kardiyak hücrelerdeki antioksidan savunma sisteminin aşıl原因 olarak kardiyotoksisite oluşturduğunu düşündürmektedir.

Loperamidin jejunum ve bağırsak yolunda MDA seviyelerini artırdığı bildirilmiştir (177). Çalışmamızda loperamid verilerek kardiyak toksisite oluşturulan ratlardaki serum MDA düzeyini, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek saptadık. Bu veriler ışığında loperamidin, lipid peroksidasyonunu uyarak serum MDA seviyesini artırdığı ve bunun sonucu olarak antioksidan savunma sistemi enzimlerinin aktivitesini azalttığı düşünülebilir. Bu oksidasyon sürecinin, membran organizasyonu ve protein fonksiyonu da dahil olmak üzere birkaç hücresel işlevi etkileyerek kardiyotoksisite oluşturduğu sonucuna varılabilir (178,179).

Kalsiyum kanal blokerleri; genellikle kalbi yükten kurtararak, koroner kan akışını artırarak ve miyokard oksijen tüketimini azaltarak miyokardiyal oksijenasyonu iyileştirir (180). İlginç bir şekilde, amlodipin, kalsiyum kanal blokeri aktivitesinden bağımsız olan ek eylemlere sahiptir. Amlodipinin antioksidan ve antiproliferatif aktiviteler sergilediği bulunmuştur (181,182).

Ahmed ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı deneysel bir çalışmada; miyokard I/R kaynaklı işlevsel, metabolik ve hücrel değişikliklerde quercetin, amlodipinle beraber verildiğinde kardiyoprotektif etkinin olası değişikliklerini araştırmıştır. Miyokardiyal I/R, normal grupla karşılaştırıldığında plazma CK aktivitesinde yaklaşık dört kat artışa neden olurken; amlodipin veya quercetin ile ön tedavi uygulanan ratlarda, CK aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Histolojik araştırmada; amlodipin ile yapılan ön tedavinin, hücrel ödemi ve hücrel apoptozu azaltmasıyla ortaya çıkan bir koruma sağladığı görülmüştür (10).

Abdelbaky ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada; ratlarda izoproterenol ile indüklenen miyokard enfarktüsüne karşı alfa lipoik asit ve amlodipinin kardiyoprotektif etkilerini araştırmıştır. Alfa lipoik Asit, amlodipin veya her iki ilacın ön tedavisi, kardiyotoksisite enzimatik indekslerin serum düzeylerindeki artışı önlediği görülmüştür. Alfa lipoik asit ve/veya amlodipin ile ön tedavi uygulanan ratlarda; enfarktüs geçiren ratlarla karşılaştırıldığında kalp dokusundaki antiperoksidatif enzimlerden SOD ve CAT gibi enzimlerin aktivitelerinde anlamlı artışlar saptanmıştır. Amlodipin ile tedavi edilen ratlar, enfarktüs geçiren ratlara kıyasla miyokardiyumda lipit peroksidasyonunda anlamlı azalmalar göstermiştir. İzoproterenol verilen ratların kalp dokusunda ciddi endokrinale ödem, mononükleer inflamatuvar hücre infiltrasyon artışı, masif miyokardiyal nekroz gibi histopatolojik bulgulara; amlodipin ile ön tedavi verilen ratların kalp dokusunda geniş ölçüde iyileşmeler mikroskop altında saptanmıştır (183).

Begum ve arkadaşlarının yaptığı bir başka deneysel çalışmada; ratlara amlodipin uygulamasının deneysel miyokard enfarktüsü tarafından indüklenen oksidatif stresi düzeltilip düzeltilmediği araştırılmıştır. Amlodipinin ön tedavi olarak verildiği ratlarla adrenalin ile uyarılarak kardiyak hasar oluşturulan ratlar kıyaslandığında; istatistiksel olarak anlamlı düzelme, tüm biyokimyasal

parametrelerde (serum AST, LDH ve kalp dokusunda MDA düzeyi) desteklenmiş ve belirgin bir şekilde iyileşmiş miyokard morfolojisi gözlemlenmiştir (184).

Çalışmamızda ratlara; tedavi edici etkisini araştırmak için loperamide bağlı kardiyotoksisite oluşturduktan sonraki 3 gün boyunca amlodipinin tek başına verildiği KT+AN2 ve KT+AN3 grubu serum SOD ve CAT düzeyini, sadece loperamid verilerek kardiyotoksisite oluşturulan KT grubu ile kıyasladığımızda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptadık ($p<0,001$). Serum MDA düzeyini ise KT grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük saptadık ($p<0,001$). Koruyucu olarak amlodipinin loperamidle eş zamanlı 7 gün boyunca verildiği KT+AN1 ve KT+AN3 grubu serum SOD ve CAT düzeyi; KT grubuna kıyasla anlamlı oranda yüksek bulunurken, serum MDA düzeyini anlamlı oranda düşük saptadık ($p<0,001$). Amlodipin verilen gruplar, Kontrol grubuyla ve birbiriyle kıyaslandığında serum SOD ve CAT düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$). Amlodipin verilen grupların serum cTnI düzeyi KT grubuyla kıyaslandığında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p>0,05$).

Çalışmamızda biyokimyasal parametrelerde; sadece loperamid verilen grupla amlodipin verilen gruplar kıyaslandığında; loperamidin antioksidan yollarda koruyucu etkiye sahip enzimlerden SOD ve CAT düzeyini düşürürken, MDA düzeyini artırarak kardiyotoksisite oluşturduğu, amlodipinin ise gruplarda SOD ve CAT enzim düzeyini artırırken MDA düzeyini azaltarak kardiyoprotektif etkiyi gösterdiği sonucuna varabiliriz. Amlodipin verilen gruplarda loperamide bağlı oluşan kardiyak hasarın biyobelirteçlerinden cTnI düzeyinde ise beklenen düzeyde anlamlı bir düşme görülmedi. Bu durum; loperamidin kardiyak hasar oluştururken aynı zamanda iyon kanalları üzerinden kardiyak ileti sistemini de etkileyerek kardiyotoksisite oluşturması ve amlodipinin antioksidan yolları aktive ederken kalbin ileti sistemine kayda değer bir etkisinin olmamasına bağlanabilir (8,164).

Daha önce yapılan deneysel çalışmada morfolojik olarak ratların kardiyak dokusu incelendiğinde; özellikle 6 mg/kg/gün dozunda loperamid uygulanan ratlarda nekroz, inflamasyon ve miyokardiyal kaslarının ayrışması görülmüştür (7). Çalışmamızda kardiyotoksisite grubu KT'nin mikroskop altında kardiyak hasar belirteci olarak histopatolojik parametrelerden miyokardiyal dejenerasyon, nekrozis, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve vakuolizasyon düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek saptadık ($p<0,05$). Amlodipin verilen

gruplar arasında KT+AN2; kontrol grubuyla kıyaslandığında kardiyak dokuda loperamide bağı kardiyak hasarda anlamlı bir iyileşme görülmedi. Miyokardiyal dejenerasyon ve vakuolizasyon düzeyi kontrol grubuna göre amlodipin verilen tüm gruplarda anlamlı düzeyde ($p<0,05$) yüksek bulunurken nekrozis düzeyinde KT+AN1 ve KT+AN3 gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Amlodipinin koruyucu olarak verildiği KT+AN1, hem koruyucu hem tedavi edici olarak verildiği KT+AN3 grubunda nekrozis düzeyinin kardiyotoksisite grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük olması ($p<0,01$) biyokimyasal parametreleri destekledi. Bu gruplarda nekrozis düzeyinin düşük saptanması loperamide bağı kardiyak hasarda amlodipinin kardiyoprotektif etkisinin ön planda olduğunu düşündürmektedir. Tedavi edici olarak sadece 3 gün boyunca amlodipin uygulandığı KT+AN2 grubunda histopatolojik parametrelerde kardiyotoksisite grubuna kıyasla anlamlı bir iyileşme görülmedi ($p>0,05$). Amlodipin verilen gruplar arası kıyaslamada KT+AN2 grubunda inflamatuvar hücre infiltrasyon düzeyi anlamlı yüksek bulunurken ($p<0,01$), bu grupta mast hücre yoğunluğu düzeyini KT+AN1 grubuna kıyasla anlamlı oranda yüksek saptadık ($p<0,05$).

Tüm histopatolojik ve biyokimyasal veriler birlikte değerlendirildiğinde; bu bulgular loperamidin kardiyotoksik etkisinin belirtileri olup, gözlemlenen parametrelerdeki değişiklikler, özellikle lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonundan kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızın esas bulgusu; loperamide bağı kardiyotoksisite oluşturulmuş gruplarda 7 günlük koruyucu amlodipin tedavisi alanlarda, kardiyoprotektif etkinin daha ön planda görülmesidir. Amlodipinin tedavi edici olarak iyileştirici etkisi biyokimyasal parametrelerde anlamlı düzeyde görülürken, histopatolojik düzeyde görülmemesi; gruplarda kardiyotoksisiteye bağı toplam 9 ratın ölümü dolayısıyla istatistiksel sonucu etkilemesi olabilir. Daha fazla sayıda ratla yapılacak deneysel çalışmalar bulgularımızı daha anlamlı hale getirebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, ratlarda oluşturulan deneysel loperamidle uyarılmış kardiyak hasarda amlodipinin etkisi araştırılmıştır. Çalışmalardan elde edilen bulgulara göre loperamidin kötüye kullanım sıklığı; tavsiye edilen dozun üstünde kullanıldığında, SSS'de reseptör düzeyindeki etkilerine bağlı olarak opioide bağlı yoksunluk belirtilerinde hafifletici özelliğinden dolayı artış göstermektedir. Kolay erişilebilir ve reçetesiz ilaç olması opioid bağımlısı bireyler için loperamidi alternatif bir ajan yapmaktadır. Bu nedenle loperamide bağlı kardiyak ve nörolojik yan etki ve semptomlarla gelen bireylerin başvuru sıklığının arttığı görülmektedir. Başvuru vakaları incelendiğinde kardiyak semptomlar; senkoptan, kardiyak ileti bozukluklarına ve kardiyak arreste kadar geniş bir yelpaze içermektedir. Loperamidin kardiyak toksisiteyi hangi mekanizmalarla oluşturduğu kesin olarak bilinmediğinden bu durum klinisyenler için yeni ama acil bir zorluk teşkil etmektedir. Yapılan çalışmalarda kardiyak Na^+/K^+ kanalları ve antioksidan enzimler üzerinde baskılayıcı özelliğine dikkat çekilmiştir.

Amlodipin yeni nesil dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokeri olarak; çalışmalarda kardiyak dokuda antioksidan enzim aktivitelerini arttırıp lipid peroksidasyonunu baskılayarak kardiyoprotektif etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda ratlarda oluşturulan loperamide bağlı kardiyotoksistide; antioksidan yollar üzerinden amlodipinin iyileştirici etkisinin olup olmadığını araştırdık. Literatür taraması yapıldığında daha önce buna benzer bir çalışma yapılmadığı görülmektedir.

Deneysel çalışmamızda, ratlarda loperamide bağlı kardiyak hasarın oluştuğunu hem biyokimyasal hem de histopatolojik parametrelerde gözlemledik. Ratlarda serum SOD ve CAT düzeyini azaltıp, MDA düzeyini arttırarak loperamidin antioksidan enzim aktivitesini baskılayarak kardiyotoksistite oluşturduğu sonucuna vardık. Kardiyak hasar biyobelirteci olan serum cTnI düzeyi; loperamid verilen tüm gruplarda hiçbir ilaç uygulaması yapılmayan kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Loperamid verilen gruplardaki histopatolojik parametrelerdeki artış kontrol grubuyla kıyaslandığında; bu sonuç biyokimyasal verileri de karşılayarak loperamide bağlı kardiyak hasar oluştuğunu destekledi.

Çalışmamızda amlodipin verilen gruplarla sadece loperamid verilerek kardiyotoksisite oluşturulan grup kıyaslandığında; serum SOD ve CAT düzeyini arttırdığını, serum MDA düzeyini anlamlı oranda düşürdüğünü saptadık. Serum cTnI düzeylerinde toksisite grubuna kıyasla beklenen düşüş görülmedi. Bu durum; amlodipinin, loperamidin kardiyak ileti sistemine olan yan etkilerine karşı kayda değer bir etkisinin olmamasına bağlandı. Kontrol grubuna kıyasla antioksidan enzim seviyelerinin korunduğu görüldü. Bizim çalışmamız; kalp dokusu iyon kanalları ve kardiyak ileti sistemini de içeren daha kapsamlı ileriye dönük çalışmalarla, loperamidin kardiyak hasar oluşturma mekanizmalarının anlaşılması ve amlodipinin kardiyoprotektif bir ajan olabileceği hususunda yol gösterici olabilir.

Histopatolojik parametrelerden nekrozis düzeyinde; amlodipinin özellikle koruyucu olarak verildiği gruplarda kardiyotoksisite grubuna göre belirgin bir iyileşme görüldü. Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme görülmedi. Toksisiteye bağlı olduğunu düşündüğümüz KT grubunda 3, diğer gruplarda 2 adet olmak üzere toplamda 9 adet rat kaybı olmasından kaynaklı bu durum; istatistiksel sonucu etkilemiş olabilir. Daha fazla sayıda deney hayvanıyla yapılacak olan çalışmalarla amlodipinin, loperamid kardiyotoksisitesini önleyici ve iyileştirici etkisi daha net bir şekilde tespit edilebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Wu PE, Juurlink DN. Clinical review: loperamide toxicity. *Annals of emergency medicine*. 2017;70(2):245-52.
2. Wu PE, Juurlink DN. Loperamide Cardiac Toxicity–Pathophysiology, Presentation and Management. *Canadian Journal of Cardiology*. 2022;
3. Modi V, Krinock M, Desai R, Stevens S, Nanda S. Loperamide-Induced Cardiac Events: Case Reports and Review. *Cureus*. 2021;13(12).
4. Eggleston W, Palmer R, Dubé PA, Thornton S, Stolbach A, Calello DP, vd. Loperamide toxicity: recommendations for patient monitoring and management. *Clinical Toxicology*. 2020;58(5):355-9.
5. De Vera J, Kim HB, Sakr AE. A case report of loperamide-induced ventricular storm. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*. 2021;9:2324709621990768.
6. Leo RJ, Ghazi MA, Jaziri KS. Methadone management of withdrawal associated with loperamide-related opioid use disorder. *Journal of Addiction Medicine*. 2017;11(5):402-4.
7. Olofinson KA, Ajala-Lawal RA, Ajiboye to. Loperamide-induced cardiotoxicity in rats: Evidence from cardiac and oxidative stress biomarkers. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2019;33(4):e22278.
8. Murdoch D, Heel RC. Amlodipine. *Drugs*. 1991;41(3):478-505.
9. Zhou MS, Jaimes EA, Raij L. Inhibition of oxidative stress and improvement of endothelial function by amlodipine in angiotensin II-infused rats. *American journal of hypertension*. 2004;17(2):167-71.
10. Ahmed LA, Salem HA, Attia AS, El-Sayed ME. Enhancement of amlodipine cardioprotection by quercetin in ischaemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2009;61(9):1233-41.
11. Kaplan MA, Prior MJ, McKonly KI, DuPont HL, Temple AR, Nelson EB. A Multicenter Randomized Controlled Trial of a Liquid Loperamide Product Versus Placebo in the Treatment of Acute Diarrhea in Children. *Clin Pediatr (Phila)*. 01 Ekim 1999;38(10):579-91.
12. Regnard C, Twycross R, Mihalyo M, Wilcock A. Loperamide. *Journal of Pain and Symptom Management*. 01 Ağustos 2011;42(2):319-23.
13. Regnard C, Robert Twycross DM, Mihalyo M, Andrew Wilcock DM. *Therapeutic Reviews*. 2011;
14. Kang J, Compton DR, Vaz RJ, Rampe D. Proarrhythmic mechanisms of the common anti-diarrheal medication loperamide: revelations from the opioid abuse epidemic. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 01 Ekim 2016;389(10):1133-7.
15. Vakkalanka JP, Charlton NP, Holstege CP. Epidemiologic Trends in Loperamide Abuse and Misuse. *Annals of Emergency Medicine*. 01 Ocak 2017;69(1):73-8.
16. Akel T, Bekheit S. Loperamide cardiotoxicity: “A Brief Review”. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*. 2018;23(2):e12505.
17. Niemegeers CJE, Colpaert FC, Awouters FHL. Pharmacology and antidiarrheal effect of loperamide. *Drug Development Research*. 1981;1(1):1-20.
18. Daly JW, Harper J. Loperamide: novel effects on capacitative calcium influx. *Cell Mol Life Sci*. 01 Ocak 2000;57(1):149-57.

19. Powell JW, Presnell SE. Loperamide as a Potential Drug of Abuse and Misuse: Fatal Overdoses at the Medical University of South Carolina. *J Forensic Sci.* Kasım 2019;64(6):1726-30.
20. Sadeque AJM, Wandel C, He H, Shah S, Wood AJJ. Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibition. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 2000;68(3):231-7.
21. Collier JK, Christrup LL, Somogyi AA. Role of active metabolites in the use of opioids. *Eur J Clin Pharmacol.* 01 Şubat 2009;65(2):121-39.
22. Kannan P, Brimacombe KR, Zoghbi SS, Liow JS, Morse C, Taku AK, vd. N-desmethyl-Loperamide Is Selective for P-Glycoprotein among Three ATP-Binding Cassette Transporters at the Blood-Brain Barrier. *Drug Metab Dispos.* 01 Haziran 2010;38(6):917-22.
23. Reynolds IJ, Gould RJ, Snyder SH. Loperamide: blockade of calcium channels as a mechanism for antidiarrheal effects. *J Pharmacol Exp Ther.* 01 Aralık 1984;231(3):628-32.
24. Litovitz T, Clancy C, Korberly B, Temple AR, Mann KV. Surveillance of Loperamide Ingestions: An Analysis of 216 Poison Center Reports. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology.* 01 Ocak 1997;35(1):11-9.
25. Daniulaityte R, Carlson R, Falck R, Cameron D, Perera S, Chen L, vd. "I just wanted to tell you that loperamide WILL WORK": A web-based study of extra-medical use of loperamide. *Drug and Alcohol Dependence.* 01 Haziran 2013;130(1):241-4.
26. Swank KA, Wu E, Kortepeter C, McAninch J, Levin RL. Adverse event detection using the FDA post-marketing drug safety surveillance system: Cardiotoxicity associated with loperamide abuse and misuse. *Journal of the American Pharmacists Association.* 01 Mart 2017;57(2, Supplement):S63-7.
27. Bishop-Freeman SC, Feaster MS, Beal J, Miller A, Hargrove RL, Brower JO, vd. Loperamide-Related Deaths in North Carolina. *Journal of Analytical Toxicology.* 01 Ekim 2016;40(8):677-86.
28. MacDonald R, Heiner J, Villarreal J, Strote J. Loperamide dependence and abuse. *Case Reports.* 02 Mayıs 2015;2015:bcr2015209705.
29. Vaughn P, Solik MMK, Bagga S, Padanilam BJ. Electrocardiographic Abnormalities, Malignant Ventricular Arrhythmias, and Cardiomyopathy Associated With Loperamide Abuse. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology.* 2016;27(10):1230-3.
30. Tayrouz Y, Ganssmann B, Ding R, Klingmann A, Aderjan R, Burhenne J, vd. Ritonavir increases loperamide plasma concentrations without evidence for P-glycoprotein involvement. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 2001;70(5):405-14.
31. Sheng J, Tran PN, Li Z, Dutta S, Chang K, Colatsky T, vd. Characterization of loperamide-mediated block of hERG channels at physiological temperature and its proarrhythmia propensity. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2017;88(Pt 2):109-22.
32. Lasoff DR, Koh CH, Corbett B, Minns AB, Cantrell FL. Loperamide Trends in Abuse and Misuse Over 13 Years: 2002–2015. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 2017;37(2):249-53.
33. Simon M, Rague J. A Case Report of Torsade de Pointes and Brugada Pattern Associated with Loperamide Misuse and Supratherapeutic Loperamide Concentrations. *J Emerg Med.* Ekim 2021;61(4):e54-9.
34. Marraffa JM, Holland MG, Sullivan RW, Morgan BW, Oakes JA, Wiegand TJ, vd. Cardiac conduction disturbance after loperamide abuse. *Clinical Toxicology.* 01 Kasım 2014;52(9):952-7.

35. Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, Keating MT. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell*. 21 Nisan 1995;81(2):299-307.
36. Leung G, Altshuler D. Conduction Disturbances and Ventricular Arrhythmias Associated with High- Dose Loperamide. *Journal of Clinical Toxicology*. 01 Ocak 2016;6.
37. Ravens U, Cerbai E. Role of potassium currents in cardiac arrhythmias. *EP Europace*. 01 Ekim 2008;10(10):1133-7.
38. Drew BJ, Ackerman MJ, Funk M, Gibler WB, Kligfield P, Menon V, vd. Prevention of Torsade de Pointes in Hospital Settings. *Circulation*. 02 Mart 2010;121(8):1047-60.
39. Gupta A, Lawrence AT, Krishnan K, Kavinsky CJ, Trohman RG. Current concepts in the mechanisms and management of drug-induced QT prolongation and torsade de pointes. *American Heart Journal*. 01 Haziran 2007;153(6):891-9.
40. Trinkley KE, Page RL, Lien H, Yamanouye K, Tisdale JE. QT interval prolongation and the risk of torsades de pointes: essentials for clinicians. *Curr Med Res Opin*. Aralık 2013;29(12):1719-26.
41. Shah SR, Park K, Alweis R. Long QT Syndrome: A Comprehensive Review of the Literature and Current Evidence. *Curr Probl Cardiol*. Mart 2019;44(3):92-106.
42. Goldenberg I, Moss AJ. Long QT syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 17 Haziran 2008;51(24):2291-300.
43. Veglio M, Borra M, Stevens LK, Fuller JH, Perin PC, and the EURODIAB IDDM Complications Study Group. The relation between QTc interval prolongation and diabetic complications. The EURODIAB IDDM Complication Study Group. *Diabetologia*. 01 Ocak 1999;42(1):68-75.
44. Schwartz PJ, Stramba-Badiale M, Crotti L, Pedrazzini M, Besana A, Bosi G, vd. Prevalence of the Congenital Long-QT Syndrome. *Circulation*. 03 Kasım 2009;120(18):1761-7.
45. AlMahameed ST, Ziv O. Ventricular Arrhythmias. *Med Clin North Am*. Eylül 2019;103(5):881-95.
46. Buxton AE, Lee KL, Hafley GE, Pires LA, Fisher JD, Gold MR, vd. Limitations of Ejection Fraction for Prediction of Sudden Death Risk in Patients With Coronary Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 18 Eylül 2007;50(12):1150-7.
47. Pires LA, Lehmann MH, Buxton AE, Hafley GE, Lee KL, null null. Differences in inducibility and prognosis of in-hospital versus out-of-hospital identified nonsustained ventricular tachycardia in patients with coronary artery disease: clinical and trial design implications1. *Journal of the American College of Cardiology*. Ekim 2001;38(4):1156-62.
48. Wit AL, Rosen MR. Pathophysiologic mechanisms of cardiac arrhythmias. *American Heart Journal*. 01 Ekim 1983;106(4, Part 2):798-811.
49. Wit AL. Cellular Electrophysiologic Mechanisms of Cardiac Arrhythmias. *Cardiology Clinics*. 01 Ağustos 1990;8(3):393-410.
50. Terkelsen CJ, Sørensen JT, Kaltoft AK, Nielsen SS, Thuesen L, Bøtker HE, vd. Prevalence and Significance of Accelerated Idioventricular Rhythm in Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction Treated With Primary Percutaneous Coronary Intervention. *The American Journal of Cardiology*. 15 Aralık 2009;104(12):1641-6.
51. Buxton AE, Waxman HL, Marchlinski FE, Simson MB, Cassidy D, Josephson ME. Right ventricular tachycardia: clinical and electrophysiologic characteristics. *Circulation*. Kasım 1983;68(5):917-27.

52. Calkins H, Kalbfleisch SJ, El-Atassi R, Langberg JJ, Morady F. Relation between efficacy of radiofrequency catheter ablation and site of origin of idiopathic ventricular tachycardia. *The American Journal of Cardiology*. 01 Nisan 1993;71(10):827-33.
53. Perkins GD, Jacobs IG, Nadkarni VM, Berg RA, Bhanji F, Biarent D, vd. Cardiac Arrest and Cardiopulmonary Resuscitation Outcome Reports: Update of the Utstein Resuscitation Registry Templates for Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *Circulation*. 29 Eylül 2015;132(13):1286-300.
54. Al -Khatib Sana M., Stevenson WG, Ackerman MJ, Bryant WJ, Callans DJ, Curtis AB, vd. 2017 AHA/ACC/HRS Guideline for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death. *Journal of the American College of Cardiology*. 02 Ekim 2018;72(14):e91-220.
55. Neumar RW, Otto CW, Link MS, Kronick SL, Shuster M, Callaway CW, vd. Part 8: Adult Advanced Cardiovascular Life Support. *Circulation*. 02 Kasım 2010;122(18_suppl_3):S729-67.
56. Tomlinson DR, Cherian P, Betts TR, Bashir Y. Intravenous amiodarone for the pharmacological termination of haemodynamically-tolerated sustained ventricular tachycardia: is bolus dose amiodarone an appropriate first-line treatment? *Emergency Medicine Journal*. 01 Ocak 2008;25(1):15-8.
57. Zipes DP, Wellens HJJ. Sudden Cardiac Death. *Circulation*. 24 Kasım 1998;98(21):2334-51.
58. Wiggers CJ. The mechanism and nature of ventricular fibrillation. *American Heart Journal*. 01 Ekim 1940;20(4):399-412.
59. Krummen DE, Ho G, Villongco CT, Hayase J, Schricker AA. Ventricular fibrillation: triggers, mechanisms and therapies. *Future Cardiol*. Mayıs 2016;12(3):373-90.
60. Hohnloser SH, Raeder EA, Podrid PJ, Graboyes TB, Lown B. Predictors of antiarrhythmic drug efficacy in patients with malignant ventricular tachyarrhythmias. *American Heart Journal*. 01 Temmuz 1987;114(1, Part 1):1-7.
61. Bishop D. Torsades de Pointes. *Confed Aust Crit Care Nurses J*. Aralık 1990;3(4):32-5.
62. Thomas SHL, Behr ER. Pharmacological treatment of acquired QT prolongation and torsades de pointes. *Br J Clin Pharmacol*. Mart 2016;81(3):420-7.
63. Omar HR, Sprenker C, Karlinski R, Mangar D, Camporesi EM. The use of isoproterenol and phenytoin to reverse torsade de pointes. *Am J Emerg Med*. 01 Haziran 2014;32(6):683.e5-7.
64. Wijaya WS, Krisnawati I. Type I Brugada-Like Pattern with Arrhythmia in Severe Anemia. *Int Med Case Rep J*. 2022;15:75-80.
65. Shi S, Barajas-Martinez H, Liu T, Sun Y, Yang B, Huang C, vd. Prevalence of spontaneous Brugada ECG pattern recorded at standard intercostal leads: A meta-analysis. *Int J Cardiol*. 01 Mart 2018;254:151-6.
66. Watanabe H, Minamino T. Genetics of Brugada syndrome. *J Hum Genet*. Ocak 2016;61(1):57-60.
67. Li KHC, Lee S, Yin C, Liu T, Ngarmukos T, Conte G, vd. Brugada syndrome: A comprehensive review of pathophysiological mechanisms and risk stratification strategies. *IJC Heart & Vasculture*. 01 Şubat 2020;26:100468.
68. Kattenbeck K, Dankl D, Müller-Huesmann H, Odenthal HJ. Brugada-like electrocardiographic pattern induced by an episode of anemia. *ZS Kardiologie*. 01 Ağustos 2005;94(8):537-41.

69. Behr ER, Ben-Haim Y, Ackerman MJ, Krahn AD, Wilde AAM. Brugada syndrome and reduced right ventricular outflow tract conduction reserve: a final common pathway? *European Heart Journal*. 14 Mart 2021;42(11):1073-81.
70. Sattar Y, Ullah W, Zaidi SR, Almas T, Alraies MC. Brugada Pattern Type 2 Diagnosis Unmasked by Aspiration Pneumonia. *Cureus*. 28 Mayıs 2020;12(5):e8331.
71. Antzelevitch C, Fish JM. Therapy for the Brugada Syndrome. İçinde: *Basis and Treatment of Cardiac Arrhythmias* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006 [a.yer 28 Mayıs 2023]. s. 305-30. (Handbook of Experimental Pharmacology). Erişim adresi: https://doi.org/10.1007/3-540-29715-4_12
72. Hegde V, Dalia T, Tayeb T, Cotter E, Vidic A. Loperamide-induced cardiogenic syncope: a case report of a life-threatening presentation of an over-the-counter drug. *Eur Heart J Case Rep*. Şubat 2023;7(2):ytad059.
73. Lasoff DR, Schneir A. Ventricular Dysrhythmias from Loperamide Misuse. *J Emerg Med*. Mart 2016;50(3):508-9.
74. Pokhrel K, Rajbhandary A, Thapa J. 1274: Loperamide: The Unexpected Culprit. *Critical Care Medicine*. Aralık 2013;41(12):A328.
75. Banas E, Rane M, Aggarwal A, Khorasani-zadeh A, Kalamkar B, Hemraj A. 1178: Ventricular Tachycardia Storm Due to Loperamide Abuse. *Critical Care Medicine*. Aralık 2013;41(12):A300.
76. Katz KD, Cannon RD, Cook MD, Amaducci A, Day R, Enyart J, vd. Loperamide-Induced Torsades de Pointes: A Case Series. *J Emerg Med*. Eylül 2017;53(3):339-44.
77. Salama A, Levin Y, Jha P, Alweis R. Ventricular fibrillation due to overdose of loperamide, the “poor man’s methadone”. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. Ekim 2017;7(4):222-6.
78. Rojas SF, Oglat A, Bonilla HMG, Jeroudi O, Sharp W, Valderrábano M, vd. Loperamide Mimicking Brugada Pattern. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2018;14(4):e1-3.
79. Kaplan NM. Calcium Entry Blockers in the Treatment of Hypertension: Current Status and Future Prospects. *JAMA*. 11 Ağustos 1989;262(6):817-23.
80. Strauss WE, Parisi AF. Combined Use of Calcium-Channel and Beta-Adrenergic Blockers for the Treatment of Chronic Stable Angina. *Ann Intern Med*. Ekim 1988;109(7):570-81.
81. Abernethy DR, Schwartz JB. Pharmacokinetics of Calcium Antagonists Under Development. *Clin-Pharmacokinet*. 01 Temmuz 1988;15(1):1-14.
82. Abernethy DR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine. *Cardiology*. 1992;80 Suppl 1:31-6.
83. Kass RS, Arena JP, Chin S. Cellular electrophysiology of amlodipine: Probing the cardiac L-type calcium channel. *The American Journal of Cardiology*. 07 Kasım 1989;64(17):I35-42.
84. Arrowsmith JE, Campbell SF, Cross PE, Stubbs JK, Burges RA, Gardiner DG, vd. Long-acting dihydropyridine calcium antagonists. 1. 2-Alkoxymethyl derivatives incorporating basic substituents. *J Med Chem*. 01 Eylül 1986;29(9):1696-702.
85. Kokilambigai KS, Kavitha J, Seetharaman R, Lakshmi KS, Sai Susmitha A. Analytical and Bioanalytical Techniques for the Quantification of the Calcium Channel Blocker - Amlodipine: A Critical Review. *Crit Rev Anal Chem*. 2021;51(8):754-86.
86. Haria M, Wagstaff AJ. Amlodipine. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in cardiovascular disease. *Drugs*. Eylül 1995;50(3):560-86.

87. Khodadoust S, Nasri Ashrafi I, Vanaja Satheesh K, Kumar C, Hs S, S C. Evaluation of the effect of time dependent dosing on pharmacokinetic and pharmacodynamics of amlodipine in normotensive and hypertensive human subjects. *Clin Exp Hypertens*. 2017;39(6):520-6.
88. Perondi R, Saino A, Zanchetti A, Mancina G. Coronary vascular reactivity and calcium antagonist therapy in patients with angina. *J Cardiovasc Pharmacol*. 01 Ocak 1994;24 Suppl A:S30-6.
89. Burris JF, Allenby KS, Mroczek WJ. The effect of amlodipine on ambulatory blood pressure in hypertensive patients. *The American Journal of Cardiology*. 27 Ocak 1994;73(3):A39-43.
90. Lund-Johansen P, Omvik P, White W, Digraanes O, Helland B, Jordal O, vd. Long-term haemodynamic effects of amlodipine at rest and during exercise in essential hypertension. *J Hypertens*. 01 Aralık 1990;8(12):1129-36.
91. Chahine RA, Feldman RL, Giles TD, Nicod P, Raizner AE, Weiss RJ, vd. Randomized placebo-controlled trial of amlodipine in vasospastic angina. *Journal of the American College of Cardiology*. 01 Mayıs 1993;21(6):1365-70.
92. Deanfield JE, Detry JMRG, Lichtlen PR, Magnani B, Sellier P, Thaulow E. Amlodipine reduces transient myocardial ischemia in patients with coronary artery disease: Double-blind circadian anti-ischemia program in Europe (CAPE trial). *Journal of the American College of Cardiology*. 15 Kasım 1994;24(6):1460-7.
93. Fraiss MA, Silke B, Verma SP, Sharma SK, Reynolds G, Jackson NC, vd. A haemodynamic dose finding study with a new slow-calcium channel blocker (amlodipine) in coronary artery disease. *Herz*. 01 Aralık 1986;11(6):351-8.
94. Lucchesi BR, Tamura Y. Cardioprotective effects of amlodipine in the ischemic-reperfused heart. *American Heart Journal*. Kasım 1989;118(5):1121-2.
95. Meluzin J, Štejfá M, Novák M, Zeman K, Špinarová L, Julínek J, vd. Amlodipine in patients with stable angina pectoris treated with nitrates and beta-blockers. The influence on exercise tolerance, systolic and diastolic functions of the left ventricle. *International Journal of Cardiology*. 01 Ekim 1992;37(1):101-9.
96. Chichester CO, Rodgers RL. Effects of doxazosin on vascular collagen synthesis, arterial pressure and serum lipids in the spontaneously hypertensive rat. *J Cardiovasc Pharmacol*. 01 Ocak 1987;10 Suppl 9:S21-6.
97. Bernini F, Catapano AL, Corsini A, Fumagalli R, Paoletti R. Effects of calcium antagonists on lipids and atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. 07 Kasım 1989;64(17):1129-34.
98. Meredith PA, Elliott HL. Clinical Pharmacokinetics of Amlodipine. *Clin-Pharmacokinet*. 01 Ocak 1992;22(1):22-31.
99. Stopher DA, Beresford AP, Macrae PV, Humphrey MJ. The metabolism and pharmacokinetics of amlodipine in humans and animals. *J Cardiovasc Pharmacol*. 01 Ocak 1988;12 Suppl 7:S55-9.
100. Faulkner J, McGibney D, Chasseaud L, Perry J, Taylor I. The pharmacokinetics of amlodipine in healthy volunteers after single intravenous and oral doses and after 14 repeated oral doses given once daily. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1986;22(1):21-5.
101. Faulkner JK, Hayden ML, Chasseaud LF, Taylor T. Absorption of amlodipine unaffected by food. Solid dose equivalent to solution dose. *Arzneimittelforschung*. 01 Temmuz 1989;39(7):799-801.

102. Abernethy DR. The pharmacokinetic profile of amlodipine. *American Heart Journal*. 01 Kasım 1989;118(5, Part 2):1100-3.
103. Mason RP, Campbell SF, Wang SD, Herbette LG. Comparison of location and binding for the positively charged 1,4-dihydropyridine calcium channel antagonist amlodipine with uncharged drugs of this class in cardiac membranes. *Mol Pharmacol*. 01 Ekim 1989;36(4):634-40.
104. Reid JL, Meredith PA, Donnelly R, Elliott HL. Pharmacokinetics of calcium antagonists. *J Cardiovasc Pharmacol*. 01 Ocak 1988;12 Suppl 7:S22-6.
105. Beresford AP, McGibney D, Humphrey MJ, Macrae PV, Stopher DA. Metabolism and kinetics of amlodipine in man. *Xenobiotica*. 01 Ocak 1988;18(2):245-54.
106. Shinomiya K, Mizushige K, Fukunaga M, Masugata H, Ohmori K, Kohno M, vd. Antioxidant effect of a new calcium antagonist, azelnidipine, in cultured human arterial endothelial cells. *Journal of international medical research*. 2004;32(2):170-5.
107. Manabe S, Okura T, Fukuoka T, Higaki J. Antioxidative effects of azelnidipine on mesangial cell proliferation induced by highly concentrated insulin. *European Journal of Pharmacology*. 19 Temmuz 2007;567(3):252-7.
108. Mason RP, Walter MF, Trumbore MW, Olmstead EG, Mason PE. Membrane antioxidant effects of the charged dihydropyridine calcium antagonist amlodipine. *J Mol Cell Cardiol*. Ocak 1999;31(1):275-81.
109. Lenasi H, Kohlstedt K, Fichtlscherer B, Mülsch A, Busse R, Fleming I. Amlodipine activates the endothelial nitric oxide synthase by altering phosphorylation on Ser 1177 and Thr 495. *Cardiovascular Research*. 01 Ekim 2003;59(4):844-53.
110. Chen L, Hought WH, Yang B, Saldeen TG, Parathasarathy S, Mehta JL. Preservation of endogenous antioxidant activity and inhibition of lipid peroxidation as common mechanisms of antiatherosclerotic effects of vitamin E, lovastatin and amlodipine. *J Am Coll Cardiol*. Ağustos 1997;30(2):569-75.
111. Halici Z, Karaca M, Keles ON, Borekci B, Odabasoglu F, Suleyman H, vd. Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertil Steril*. Aralık 2008;90(6):2408-15.
112. Khan NA, Chattopadhyay P, Abid M, Pawdey A, Kishore K, Wahi AK. Protective effects of amlodipine on mitochondrial injury in ischemic reperfused rat heart. *J Environ Biol*. Mayıs 2012;33(3):591-5.
113. Mason RP. Mechanisms of atherosclerotic plaque stabilization for a lipophilic calcium antagonist amlodipine. *Am J Cardiol*. 21 Kasım 2001;88(10A):2M-6M.
114. Borhani NO, Mercuri M, Borhani PA, Buckalew VM, Canossa-Terris M, Carr AA, vd. Final Outcome Results of the Multicenter Isradipine Diuretic Atherosclerosis Study (MIDAS): A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 11 Eylül 1996;276(10):785-91.
115. Lichtlen PR, Rafflenbeul W, Hecker H, Jost S, Hugenholtz PG, Deckers JW. Retardation of angiographic progression of coronary artery disease by nifedipine. *The Lancet*. 12 Mayıs 1990;335(8698):1109-13.
116. Russell RP. Side effects of calcium channel blockers. *Hypertension*. Mart 1988;11(3_pt_2):II42.
117. Hosie J, Bremner D, Fell PJ, James IGV, Saul PA, Taylor SH. Comparison of Early Side Effects with Amlodipine and Nifedipine Retard in Hypertension. *Cardiology*. 12 Kasım 2008;80(Suppl. 1):54-9.

118. Osterloh IH. An update on the safety of amlodipine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1991;17 Suppl 1:S65-68.
119. Yoshikawa T, Naito Y. What Is Oxidative Stress? *OXIDATIVE STRESS.*
120. Venkataraman K, Khurana S, Tai TC. Oxidative stress in aging--matters of the heart and mind. *Int J Mol Sci.* 02 Eylül 2013;14(9):17897-925.
121. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1998;75(2):199-212.
122. Matsuzaki S, Szweda PA, Szweda LI, Humphries KM. Regulated production of free radicals by the mitochondrial electron transport chain: Cardiac ischemic preconditioning. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 30 Kasım 2009;61(14):1324-31.
123. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions.* 05 Aralık 2014;224:164-75.
124. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Molecular Aspects of Medicine.* 01 Ağustos 1998;19(4):221-357.
125. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine.* 01 Haziran 2000;108(8):652-9.
126. Strobel NA, Fassett RG, Marsh SA, Coombes JS. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. *Int J Cardiol.* 03 Mart 2011;147(2):191-201.
127. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* Ağustos 2005;15(4):316-28.
128. Voitkun V, Zhitkovich A. Analysis of DNA-protein crosslinking activity of malondialdehyde in vitro. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 08 Mart 1999;424(1):97-106.
129. Slatter DA, Bolton CH, Bailey AJ. The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia.* 01 Mayıs 2000;43(5):550-7.
130. Grotto D, Maria LS, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, vd. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects FOR malondialdehyde quantification. *Quím Nova.* 2009;32:169-74.
131. Cirak B, Inci S, Palaoglu S, Bertan V. Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clinica Chimica Acta.* 01 Ocak 2003;327(1):103-7.
132. Kesavulu MM, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetics with coronary heart disease. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 01 Temmuz 2001;53(1):33-9.
133. Varga ZV, Ferdinandy P, Liaudet L, Pacher P. Drug-induced mitochondrial dysfunction and cardiotoxicity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Kasım 2015;309(9):H1453-1467.
134. Pacher P, Szabó C. Role of Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in Cardiovascular Diseases: The Therapeutic Potential of PARP Inhibitors. *Cardiovascular Drug Reviews.* 2007;25(3):235-60.
135. Ho E, Karimi Galougahi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology.* 01 Ocak 2013;1(1):483-91.
136. Wu JQ, Kosten TR, Zhang XY. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 01 Ekim 2013;46:200-6.

137. Somogyi A, Rosta K, Pusztai P, Tulassay Z, Nagy G. Antioxidant measurements. *Physiol Meas.* Nisan 2007;28(4):R41-55.
138. Saleem U, Sabir S, Niazi SG, Naeem M, Ahmad B. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Defense Biomarkers in Neurodegenerative Diseases. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2020;30(4):311-22.
139. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocyanin). *J Biol Chem.* 25 Kasım 1969;244(22):6049-55.
140. Omar BA, Flores SC, McCord JM. Superoxide dismutase: pharmacological developments and applications. *Adv Pharmacol.* 1992;23:109-61.
141. Warner HR. Superoxide dismutase, aging, and degenerative disease. *Free Radic Biol Med.* Eylül 1994;17(3):249-58.
142. Carillon J, Rouanet JM, Cristol JP, Brion R. Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of supplementation and proposal of an original mechanism of action. *Pharm Res.* Kasım 2013;30(11):2718-28.
143. Glorieux C, Calderon PB. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol Chem.* 26 Eylül 2017;398(10):1095-108.
144. Heck DE, Shakerjian M, Kim HD, Laskin JD, Vetrano AM. Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Ann N Y Acad Sci.* Ağustos 2010;1203:120-5.
145. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell.* Ekim 2010;1(10):888-97.
146. Jacob R, Khan M. Cardiac Biomarkers: What Is and What Can Be. *Indian J Cardiovasc Dis Women WINCARS.* Aralık 2018;03(4):240-4.
147. Aviles JM, Aviles RJ. Advances in cardiac biomarkers. *Emerg Med Clin North Am.* Kasım 2005;23(4):959-75.
148. Wallace KB, Hausner E, Herman E, Holt GD, Macgregor JT, Metz AL, vd. Serum troponins as biomarkers of drug-induced cardiac toxicity. *Toxicologic pathology.* 2004;32(1):106-21.
149. Aldous SJ. Cardiac biomarkers in acute myocardial infarction. *International Journal of Cardiology.* 15 Nisan 2013;164(3):282-94.
150. Mythili S, Malathi N. Diagnostic markers of acute myocardial infarction (Review). *Biomedical Reports.* 01 Kasım 2015;3(6):743-8.
151. Lewandowski K, Chen A, Januzzi J. Cardiac Markers for Myocardial Infarction: A Brief Review. *Pathology Patterns Reviews.* 01 Aralık 2002;118(suppl_1):S93-9.
152. Nigam PK. Biochemical markers of myocardial injury. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2007;22(1):10-7.
153. Donnellan E, Phelan D. Biomarkers of Cardiac Stress and Injury in Athletes: What Do They Mean? *Curr Heart Fail Rep.* Nisan 2018;15(2):116-22.
154. Garg P, Morris P, Fazlanie AL, Vijayan S, Dancso B, Dastidar AG, vd. Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitivity cardiac troponin. *Intern Emerg Med.* 01 Mart 2017;12(2):147-55.
155. Liquori ME, Christenson RH, Collinson PO, Defilippi CR. Cardiac biomarkers in heart failure. *Clin Biochem.* Nisan 2014;47(6):327-37.

156. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, vd. Third Universal Definition of Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 16 Ekim 2012;60(16):1581-98.
157. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of Antemortem Serum Creatine Kinase, Creatine Kinase-MB, Troponin I, and Troponin T with Cardiac Pathology. *Clinical Chemistry*. 01 Mart 2000;46(3):338-44.
158. Lwin OM, Giribabu N, Kilari EK, Salleh N. Topical administration of mangiferin promotes healing of the wound of streptozotocin-nicotinamide-induced type-2 diabetic male rats. *Journal of Dermatological Treatment*. 17 Kasım 2021;32(8):1039-48.
159. Elma B, Mammadov R, Süleyman H, Gündoğdu B, Yurt Ş, Bilgin Y, vd. The effect of rutin on experimentally induced acute heart contusion in rats: Biochemical and histopathological evaluation. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery/Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi*. 2022;28(8).
160. Olofinsan KA, Rafiat ALA, Ajiboye TO. Loperamide Induced Neurotoxicity In Rats: Biochemical And Histological Evidence.
161. Sathish V, Kumar Ebenezar K, Devaki T. Synergistic effect of nicorandil and amlodipine on tissue defense system during experimental myocardial infarction in rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2003;243(1):133-8.
162. Teigeler T, Stahura H, Alimohammad R, Kalahasty G, Koneru JN, Ellenbogen M, vd. Electrocardiographic changes in loperamide toxicity: Case report and review of literature. *J Cardiovasc Electrophysiol*. Kasım 2019;30(11):2618-26.
163. Ahmed A, Freeland S, Steinberg L, Prystowsky EN. Wide complex tachycardia and cardiomyopathy: What would you do? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*. 2018;29(8):1171-3.
164. Kozak PM, Harris AE, McPherson JA, Roden DM. Torsades de pointes with high-dose loperamide. *J Electrocardiol*. 2017;50(3):355-7.
165. Wightman RS, Hoffman RS, Howland MA, Rice B, Biary R, Lugassy D. Not your regular high: cardiac dysrhythmias caused by loperamide. *Clinical Toxicology*. 27 Mayıs 2016;54(5):454-8.
166. Enakpene EO, Riaz IB, Shirazi FM, Raz Y, Indik JH. The Long QT Teaser: Loperamide Abuse. *The American Journal of Medicine*. 01 Ekim 2015;128(10):1083-6.
167. Missov E, Calzolari C, Pau B. Circulating Cardiac Troponin I in Severe Congestive Heart Failure. *Circulation*. 04 Kasım 1997;96(9):2953-8.
168. O'Brien PJ. Cardiac troponin is the most effective translational safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*. 20 Mart 2008;245(3):206-18.
169. Ali Z, Shoukat U, Khan M, Roomi S, Ullah W. ' Loperamide overdose induces ventricular tachycardia with catastrophic outcomes'. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 14 Haziran 2020;10(3):229-32.
170. Bornstein K, Montrieff T, Parris MA. Left Ventricular Regional Wall Motion Abnormality in the Setting of Acute Loperamide Overdose. *Clin Pract Cases Emerg Med*. Ağustos 2019;3(3):262-6.
171. Matés JM, Sánchez-Jiménez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontiers in Bioscience-Landmark*. 1999;4(4):339-45.
172. Hunt CR, Sim JE, Sullivan SJ, Featherstone T, Golden W, Von Kapp-Herr C, vd. Genomic Instability and Catalase Gene Amplification Induced by Chronic Exposure to Oxidative Stress I. *Cancer Research*. 01 Eylül 1998;58(17):3986-92.

173. Całłyniuk B, Grochowska-Niedworok E, Walkiewicz KW, Kawecka S, Popiołek E, Fatyga E. Malondialdehyde (MDA)—product of lipid peroxidation as marker of homeostasis disorders and aging. İçinde: *Annales Academiae Medicae Silesiensis. Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*; 2016. s. 224-8.
174. Kalender S, Kalender Y, Ates A, Yel M, Olcay E, Candan S. Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on idarubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Braz J Med Biol Res*. Kasım 2002;35:1379-87.
175. Kanter MM, Hamlin RL, Unverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *Journal of Applied Physiology*. Ekim 1985;59(4):1298-303.
176. Jabri MA, Hajji N, Wannes D, Sebai H. Protective Effect of Mallow Leaves Extract against Loperamide-induced Oxidative Stress in Rat Jejunum. *International Journal of Hepatology*. 3(1).
177. Rtibi K, Grami D, Wannes D, Selmi S, Amri M, Sebai H, vd. Ficus carica aqueous extract alleviates delayed gastric emptying and recovers ulcerative colitis-enhanced acute functional gastrointestinal disorders in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 05 Ekim 2018;224:242-9.
178. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*. 01 Mart 2003;329(1):23-38.
179. Niki E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers. *Biofactors*. 2008;34(2):171-80.
180. Opie LH. First line drugs in chronic stable effort angina—the case for newer, longer-acting calcium channel blocking agents. *Journal of the American College of Cardiology*. 15 Kasım 2000;36(6):1967-71.
181. Stepien O, Gogusev J, Zhu DL, Iouzalet L, Herembert T, Drueke TB, vd. Amlodipine Inhibition of Serum-, Thrombin-, or Fibroblast Growth Factor-Induced Vascular Smooth-Muscle Cell Proliferation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. Mayıs 1998;31(5):786.
182. Champagne S, Hittinger L, Héloire F, Suto Y, Sambin L, Crozatier B, vd. Reduced coronary vasodilator responses to amlodipine in pacing-induced heart failure in conscious dogs: role of nitric oxide. *British Journal of Pharmacology*. 2002;136(2):264-70.
183. Abdelbaky N, Alrasheed N, Al-Rasheed N, Zaghloul I. Alpha-lipoic acid and amlodipine ameliorate myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *International Journal of Academic Research*. 01 Ocak 2009;
184. Begum S, Akhter N. Cardioprotective effect of amlodipine in oxidative stress induced by experimental myocardial infarction in rats. *Bangladesh Journal of Pharmacology*. 2007;2(2):55-60.