

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA SİTALOPRAMİN İNDÜKLEDİĞİ
QT UZAMASI VE MİYOKARDİYAL HASARDA
NİKORANDİLİN ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. GÖZDE AKTÜRK

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2020

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA SİTALOPRAMİN İNDÜKLEDİĞİ
QT UZAMASI VE MİYOKARDİYAL HASARDA
NİKORANDİLİN ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. GÖZDE AKTÜRK

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Şule KALKAN

(Bu araştırma, Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından
2019.KB.SAG.004 numaralı proje ile desteklenmiştir.)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
I. TABLO, ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ	i
II. KISALTMALAR	iii
III. TEŞEKKÜR	v
IV. TÜRKÇE ÖZET	1
V. SUMMARY	4
VI. GİRİŞ VE AMAÇ	7
VII. GENEL BİLGİLER	10
VII. A. Uzun QT Sendromu	10
VII. B. Selektif Serotonin Geri-Alım (Re-Uptake) İnhibitörleri	13
VII. C. Sitalopram	14
VII. D. ATP Bağımlı Potasyum Kanalları	21
VII. E. Nikorandil	28
VIII. GEREÇ VE YÖNTEM	34
VIII. A. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	34
VIII. B. Deney Hazırlığı ve Cerrahi İşlemler	34
VIII. C. Kardiyak Parametrelerin Kaydı	35
VIII. D. Deneyde Kullanılan İlaçlar ve Hazırlanışı	37
VIII. E. Deney Protokolleri	38
VIII. F. Biyokimyasal Analizler	41
VIII. G. Histolojik İnceleme	41
VIII. H. İstatistiksel Analiz	44
IX. BULGULAR	45
IX. A. Ön Çalışma	45
IX. B. Deney Protokolü	48
X. TARTIŞMA	66
XI. SONUÇLAR	73
XII. KAYNAKLAR	74

I. TABLO, ŞEKİL VE RESİM DİZİNİ

I. A. Tablo Dizini

Tablo 1. QT intervali uzaması ve torsades de pointese sebep olabilen ilaçlar

Tablo 2. K_{ATP} kanalı izoformları

Tablo 3. Kardiyovasküler sistemdeki K_{ATP} kanallarının doku-spesifik dağılımları

Tablo 4. K_{ATP} kanal açıcı ve blokörü ilaçların farmakolojik özellikleri

Tablo 5. Ön çalışma gruplarındaki sıçanların başlangıç kardiyovasküler parametreleri ve vücut ağırlıkları

Tablo 6. Sitalopramın (102 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QTc), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 7. Nikorandilin (3 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QTc), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 8. 5-hydroxydecanoate'ın (5-HD) (10 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QTc), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 9. Sıçanların başlangıç biyokimyasal ve histolojik parametreleri

Tablo 10. Deney gruplarındaki sıçanların başlangıç kardiyovasküler parametreleri ve vücut ağırlıkları

Tablo 11. Serum fizyolojik (SF) uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 12. Nikorandil uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 13. 5-hydroxydecanoate (5-HD) uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 14. 5-hydroxydecanoate (5-HD)+Nikorandil uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Tablo 15. Plazma oksidan/antioksidan parametreler

Tablo 16. Doku oksidan/antioksidan parametreler

Tablo 17. Histomorfolojik skarlama

Tablo 18. TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayıları

I. B. Şekil Dizini

Şekil 1. Sitalopramın kimyasal yapısı

Şekil 2. K_{ATP} kanalı moleküler yapısı

Şekil 3. K_{ATP} kanal açıcılarının terapötik olarak kullanıldığı/araştırıldığı klinik durumlar

Şekil 4. Kardiyomiyositlerdeki K_{ATP} kanallarının koruyucu etki mekanizması

Şekil 5. Nikorandilin kimyasal yapısı

Şekil 6. Nitrik oksit (NO) arteriyel düz kastaki fonksiyonu

Şekil 7. K_{ATP} kanalının arteriyel düz kastaki fonksiyonu

Şekil 8. Deney protokolü

Şekil 9. Gruplararası QRS süreleri karşılaştırması

Şekil 10. Gruplararası QT intervali karşılaştırması

Şekil 11. Gruplararası düzeltilmiş QT intervali (QT_c) karşılaştırması

Şekil 12. Gruplararası kalp atım hızı (KAH) karşılaştırması

I. C. Resim Dizini

Resim 1. Anestezi altındaki sıçanda EKG elektrodlarının yerleştirilmesi

Resim 2. Veri kayıt sistemi (Powerlab/8SP Data Acquisition Sistem)

Resim 3. Chart 5.0 yazılımında (AD Instruments) veri kaydı

Resim 4. Sıçan vena cava caudalis'inden kan alınması

Resim 5. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. Hematoksilen-eozin boyaması

Resim 6. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. Masson trikrom boyaması

Resim 7. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 boyaması

II. KISALTMALAR

UQTS:	Uzun QT sendromu
EKG:	Elektrokardiyografi
TdP:	Torsades de pointes
QTc:	Düzeltilmiş QT intervali
SSRI:	Selektif serotonin re-uptake inhibitörleri
hERG:	Human ether-a-go-go related gene
IKr:	Gecikmeli doğrultucu potasyum akımının hızlı komponenti
IKs:	Gecikmeli doğrultucu potasyum akımının yavaş komponenti
ICaL:	L tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum akımının geç komponenti
EAD:	Erken ard depolarizasyon
FDA:	Food and Drug Administration
TSA:	Trisiklik antidepresan
GABA:	γ -aminobutirik asit
DCT:	Desmetilsitalopram
DDCT:	Didesmetilsitalopram
C _{max} :	Plazma maksimum ilaç konsantrasyonu
EAA:	Eğri altında kalan alan
t _{1/2} :	Eliminasyon yarı ömrü
V _d :	Sanal dağılım hacmi
AV:	Atriyoventriküler
DPCPX:	8-Cyclopentyl-1,3-Dipropylxanthine
MAO:	Monoamin oksidaz
İLE:	İntravenöz lipid emülsiyon
SUR:	Sülfonilüre reseptörü
Sarc-K _{ATP} :	Sarkolemmal K _{ATP}
Mito-K _{ATP} :	Mitokondriyal K _{ATP}
PLC:	Fosfolipaz C
PKC:	Protein kinaz C
DAG:	Diaçil gliserol
IP ₃ :	İnositol trifosfat
ATP:	Adenozin trifosfat

ADP:	Adenozin difosfat
GTP:	Guanozin trifosfat
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADP:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NO:	Nitrik oksit
cGMP:	Siklik guanozin monofosfat
NCX1:	Na ⁺ /Ca ⁺² exchanger
PKG:	cGMP-bağımlı protein kinaz
IP3:	İnositol trifosfat
SR:	Sarkoplazmik retikulum
SOD:	Süperoksid dismutaz
MDA:	Malondialdehit
GSH:	Redükte glutatyon
GpX:	Glutatyon peroksidaz
DEÜTF:	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
KAH:	Kalp atım hızı
5-HD:	5-hydroxydecanoate
SF:	Serum fizyolojik
MLD:	Medyan letal doz
PBS:	Fosfat Buffered Saline
HPLC:	Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
TdT:	Terminal deoxynucleotidyl transferase
eNOS:	Endotelyal NO sentaz
GST:	Glutatyon-S-Transferaz
GR:	Glutatyon Redüktaz
L-NNA:	Nitroω-l-arginine

III. TEŞEKKÜR

Tüm yaşamım boyunca her konuda bana destek olan aileme; annem Sabahat Aktürk'e, babam Aytekin Aktürk'e, abim Güray Aktürk'e çok teşekkür ediyorum.

Asistanlık eğitimim boyunca bilimsel anlamda öğrendiğim çoğu şeyi borçlu olduğum, her konuda bana desteğini esirgemeyen, her zaman samimi, hoşgörülü tavrıyla üzerimde büyük emeği olan danışmanım Prof. Dr. Şule Kalkan'a; tıpta uzmanlık tezim olan bu çalışma başta olmak üzere diğer çalışmalarda da gerek neşesi gerek güleryüzüyle her zaman desteğini hissettiğim Doç. Dr. Nil Hoccoğlu Aksay'a; dört yıl boyunca bana her konuda yardımcı olan ve eğitim hayatıma büyük katkılar sağlayan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmamdaki içten yardımları için Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Serap Cilaker Mıcılı ve Prof. Dr. Bekir Uğur Ergür'e; Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Özlem Gürsoy Doruk'a ve yüksek lisans öğrencisi Samar Mohamed Ali Ahmed'e çok teşekkür ediyorum.

Asistanlık sürem boyunca birlikte keyifle çalıştığım ve dostluklarını hep hissettiğim tüm asistan arkadaşlarıma ve bölüm çalışanlarına yürekten teşekkürlerimi sunarım.

IV. TÜRKÇE ÖZET

Sıçanlarda Sitalopramın İndüklediği QT Uzaması ve Miyokardiyal Hasarda Nikorandilin Etkilerinin Değerlendirilmesi

Dr. Gözde AKTÜRK, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Amaç: Çalışmamızın amacı, bir selektif serotonin re-uptake inhibitörü (SSRI) antidepresan olan sitalopram ile indüklenmiş sıçan QT intervali uzaması ve miyokardiyal hasar modelinde selektif mitokondriyal K_{ATP} (mito- K_{ATP}) kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu rolünün araştırılmasıdır.

Yöntem: Çalışmada 44 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Ön çalışmada sitalopramın QT intervalini uzatan dozunun tespit edilmesi amacıyla medyan letal doz (MLD)'den düşük (n=3), MLD'ye eşit (102.2 mg/kg, n=1) ve MLD'den yüksek (n=1) dozda sitalopram intraperitoneal (i.p) yol ile uygulanarak kardiyovasküler parametreler [kalp atım hızı (KAH), QRS süresi, QT intervali ve düzeltilmiş QT intervali (QT_c)] kaydedildi. Sitalopram uygulanmasını takiben QT intervalinde uzama tespit edilen ve ölüm görülmeyen dozda (102.2 mg/kg i.p) sıçan sayısı 5'e tamamlandı. Ön çalışmanın diğer kısmında selektif mito- K_{ATP} kanal açıcı nikorandil (3 mg/kg i.p, n=3) ve selektif mito- K_{ATP} kanal blokörü 5-hydroxydecanoate (5-HD) (10 mg/kg i.p, n=3) tek başına uygulanarak kardiyovasküler parametreler kaydedildi. Kontrol değeri olarak kaydedilmek üzere 6 adet sıçandan alınan kan ve kalp dokusu örneklerinde biyokimyasal ve histolojik veriler değerlendirildi. Plazma ve doku örneklerinden malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile, glutatyon peroksidaz (GpX), süperoksit dismutaz (SOD) kolorimetrik spektrofotometrik yöntem ile değerlendirildi. Doku hasarının histolojik değerlendirilmesinde hematoksilin-eozin ve masson trikrom boyamaları kullanılarak skorlama yapıldı. Kardiyomiyositlerdeki apoptoz ise Aktive KASPAZ-3 ve TUNEL yöntemi ile immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Deney gruplarında sıçanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı. Tüm deney gruplarında sitalopram sonrası 120 dk boyunca kardiyovasküler parametreler kaydedildi. Serum fizyolojik (SF)+sitalopram grubunda (n=6) sitalopramın tek başına kardiyovasküler etkilerini değerlendirmek için sıçanlara ön çalışmada test edilen sitalopram dozu (102 mg/kg i.p) uygulandı. Nikorandil+sitalopram grubunda (n=5), nikorandilin sitalopram ile indüklenen QT interval uzamasındaki etkisini değerlendirmek için SF uygulamasını takiben 10 dk sonra

nikorandil (3 mg/kg i.p), takiben 15 dk sonra da sitalopram (102 mg/kg i.p) uygulandı. 5-HD+sitalopram grubunda (n=6), selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü olan 5-HD uygulamasını (10 mg/kg i.p) takiben 10 dk sonra SF, takiben 15 dk sonra da sitalopram (102 mg/kg i.p) uygulandı. 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunda (n=6) ise, selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü 5-HD uygulamasını (10 mg/kg i.p) takiben 10 dk sonra selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı nikorandil (3 mg/kg i.p), takiben 15 dk sonra da sitalopram (102 mg/kg i.p) uygulanarak selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı ve blokör ilaçların birlikte uygulandığındaki etkisi değerlendirildi.

İzlem süresi boyunca sıçanların KAH, QRS süresi, QT intervalı ve QT_c intervalı kaydedildi. Deney sonunda sıçanlardan kan ve kalp örnekleri alındı. Plazma ve doku örneklerinden MDA, GSH, GpX, SOD değerleri kaydedildi. Kalp dokusunda histomorfolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeler yapıldı. İstatistiksel analizde kardiyovasküler parametreler ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirmesinde varyans analizi (ANOVA) ve takiben Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testleri (Graphad Instat V2.05a 1994), histolojik verilerin değerlendirmesinde Kruskal Wallis ve Mann Whitney U post hoc testleri kullanıldı (SPSS 20.0 INC., Chicago, IL, USA).

Bulgular: Ön çalışmada sitalopramın QT intervalini uzatan ve ölüm görülmeyen dozu 102 mg/kg, i.p olarak bulundu. Tek başına uygulanan nikorandil ve 5-HD, QT intervalı, QT_c intervalı, QRS süresi ve KAH değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmadı (p>0.05).

SF uygulamasını takiben sitalopram uygulanan sıçanların EKG'lerinde QRS süresi ve KAH'da anlamlı bir değişiklik oluşmazken (p>0.05), QT ve QT_c intervallerinde başlangıca göre (QT intervalı için; 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda, sırasıyla p<0.01, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.05, p<0.001; QT_c intervalı için; 50., 60., 70., 80., 100. dk'larda, sırasıyla p<0.05, p<0.001, p<0.01, p<0.05, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı uzama görüldü. Sitalopram uygulaması sıçanların oksidan/antioksidan parametrelerinde (MDA/GSH, GpX, SOD) kontrol değerlerine göre anlamlı bir farklılık oluşturmadı (p>0.05). Sıçanların miyokardiyal hücrelerinde histomorfolojik hasar gözlemlendi, histomorfolojik skor ve apoptozda kontrol değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı (p<0.01, p<0.001).

Nikorandili takiben sitalopram uygulanan sıçanlarda nikorandil, sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamayı engellemedi (p>0.05), oksidan/antioksidan parametrelerde

değişiklik oluşturmadi ($p>0.05$), ancak sitalopramın histomorfolojik skor ve apoptozda yaptığı artışı anlamlı şekilde azalttı ($p<0.05$, $p<0.001$). 5-HD'yi takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamada anlamlı değişiklik oluşturmazken ($p>0.05$), nikorandil+sitalopramın histomorfolojik skor ve apoptozu azaltıcı etkisini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdı ($p<0.01$, $p<0.001$). 5-HD+nikorandili takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği QT intervalindeki uzamayı 60. dk'da, QT_c intervalindeki uzamayı 50. ve 60.dk'larda; 5-HD'yi takiben sitalopram uygulamasının indüklediği QT_c intervali uzamasını ise 40. ve 50. dk'larda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttı (tüm değerler için $p<0.05$). Diğer tüm deney gruplarında da oksidan/antioksidan parametrelerde istatistiksel anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$).

Sonuç: Sitalopram QT-QT_c intervallerinde uzamaya, miyokardiyal hücrelerde histolojik hasara ve apoptozda artışa neden olarak kardiyak toksisiteye yol açtı. Ancak bu kardiyak toksisitede oksidatif stresin etkisi gözlenmedi. Selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandil, sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervali uzamasında koruyucu bir rol oynamazken, miyokardiyal hasardan koruyucu etkisi olduğu gösterildi. Nikorandilin bu koruyucu etkisinde anti-apoptotik etkisinin rolü gösterildi ancak anti-oksidan etkisinin katkısı gösterilemedi. Çalışmamız sitalopramın oluşturduğu miyokardiyal hasarın mekanizmasında mito-K_{ATP} kanallarının rolü olabileceğini ve nikorandilin koruyucu etki yapabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Sitalopram, nikorandil, kardiyotoksisite, uzun QT sendromu, K_{ATP} kanalları

V. SUMMARY

Evaluation of the Effects of Nicorandil on the QT Prolongation and Myocardial Damage Induced by Citalopram in Rats

Gozde AKTURK, Dokuz Eylul University School of Medicine Department of Medical Pharmacology, Izmir, Turkey.

Objective: The aim of our study is to evaluate the protective role of nicorandil, a selective mitochondrial K_{ATP} (mito- K_{ATP}) channel opener, on the QT interval prolongation and myocardial damage model induced by citalopram, a selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant.

Methods: Experiments were carried out on 44 male Sprague Dawley rats. In the preliminary study, in order to determine the intraperitoneal (i.p) dosage of citalopram that prolongs the QT interval, i.p citalopram was administered at lower than the median lethal dose (MLD) (n=3), equal to MLD (102.2 mg/kg, n=1), higher than MLD (n=1) and cardiovascular parameters [heart rate (HR), QRS duration, QT interval and corrected QT interval (QT_c)] were recorded.

Following citalopram administration, the number of rat was completed to 5 at the dose (102.2 mg/kg i.p), in which prolongation of QT interval was detected and no death was observed. In the other part of this preliminary study, selective mito- K_{ATP} channel opener nicorandil (3 mg/kg i.p, n=3) and selective mito- K_{ATP} channel blocker 5-hydroxydecanoate (5-HD) (10 mg/kg i.p, n=3) were applied alone and cardiovascular parameters were recorded. Biochemical and histological data were evaluated in blood and heart tissue samples which were taken from 6 rats to record as control values. Malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH) were measured by high pressure liquid chromatography (HPLC); glutathione peroxidase (GpX), superoxide dismutase (SOD) were measured by colorimetric spectrophotometric method from plasma and tissue samples. Histological examination of tissue damage was performed using a scoring system on hematoxylin-eosin and masson trichrome stained slides. Apoptosis in cardiomyocytes was evaluated immunohistochemically by Activated CASPASE-3 and TUNEL method.

Rats were randomly divided into 4 groups in the experimental groups. Cardiovascular parameters were recorded for 120 minutes after injections of citalopram in all experimental groups. Citalopram dose (102 mg/kg i.p) tested in the preliminary study were administered to the rats of the saline (SF)+citalopram group (n=6) in order to evaluate the cardiovascular effects

of citalopram alone. In the nicorandil+citalopram group (n=5), to evaluate the effect of nicorandil on citalopram-induced QT interval prolongation, 10 minutes after SF injection nicorandil (3 mg/kg i.p) was administered and citalopram (102 mg/kg i.p) was administered following 15 minutes after nicorandil injection. In the 5-HD+citalopram group (n=6), 10 minutes after 5-HD (selective mito-K_{ATP} channel blocker) (10 mg/kg i.p) injection SF was administered and citalopram (102 mg/kg i.p) was administered following 15 minutes after SF injection. In the 5-HD+nicorandil+citalopram group (n=6), 10 minutes after 5-HD (selective mito-K_{ATP} channel blocker) injection (10 mg/kg i.p) nicorandil (selective mito-K_{ATP} channel opener) (3 mg/kg i.p) was administered and citalopram (102 mg/kg i.p) was administered following 15 minutes after nicorandil injection and the effects of the selective mito-K_{ATP} channel opener and blocker drugs were evaluated when used together.

HR, QRS duration, QT interval and QTc interval of rats were recorded during the follow-up period. Blood and heart samples were taken from the rats at the end of the experiment. MDA, GSH, GpX and SOD values were recorded from plasma and tissue samples. Histomorphological and immunohistochemical evaluations were made in the heart tissue. Statistical analysis of cardiovascular and biochemical parameters was performed by variance analysis (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison tests (Graphad Instat V2.05a 1994). Statistical analysis of histological parameters was performed by Kruskal Wallis and Mann Whitney U post hoc tests (SPSS 20.0 INC., Chicago, IL, USA).

Results: In the preliminary study, the dose of citalopram that prolongs the QT interval and without death was found as 102 mg/kg, i.p.. Nicorandil and 5-HD alone, did not statistically difference for QT interval, QTc interval, QRS duration and HR values to the baseline (p>0.05).

In ECG of rats administered citalopram following SF, while there was no significant difference in QRS duration and HR (p>0.05), there was statistically significant prolongation in QT and QTc intervals to the baseline (for QT interval; 40th, 50th, 60th, 70th, 80th, 90th, 100th, 110th, 120th minutes, respectively p<0.01, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.001, p<0.05, p<0.001; for QTc interval; 50th, 60th, 70th, 80th, 100th minutes, respectively p<0.05, p<0.001, p<0.01, p<0.05, p<0.05). Citalopram did not cause any significant difference in the oxidant / antioxidant parameters (MDA/GSH, GpX, SOD) of the rats compared to the control values (p>0.05). Histomorphological damage was observed in the myocardial cells of the rats

and there was statistically significant increase in histomorphological and apoptosis scores when compared to the control values ($p<0.01$, $p<0.001$).

In rats administered citalopram following nicorandil, nicorandil did not prevent the prolongation in citalopram-induced QT and QT_c interval ($p>0.05$), did not cause any significant difference in the oxidant/antioxidant parameters ($p>0.05$), however it significantly reduced the increase of histomorphological score and apoptosis induced by citalopram ($p<0.05$, $p<0.001$). While citalopram injection following 5-HD, did not cause any significant change in the prolongation of QT and QT_c interval induced by citalopram ($p>0.05$), it significantly increased the decrease of histomorphological score and apoptosis induced by nicorandil+citalopram ($p<0.01$, $p<0.001$). Citalopram injection following 5-HD+nicorandil, caused a statistically significant decrease in the QT interval prolongation at 60th minute, QT_c interval prolongation at 50th and 60th minutes induced by citalopram; QT_c interval prolongation at 40th and 50th minutes induced by 5-HD+citalopram ($p<0.05$, for all parameters). There was no statistically significant difference in oxidant/antioxidant parameters in all other experimental groups ($p>0.05$).

Conclusion: Citalopram caused cardiac toxicity by causing prolongation in QT-QT_c intervals, histological damage in myocardial cells and an increase in apoptosis but the effect of oxidative stress was not observed in this cardiac toxicity model. Nicorandil, which is a selective mito-K_{ATP} channel opener, did not play a protective role in the prolongation of QT and QT_c interval induced by citalopram, but it was shown to have a protective effect from myocardial damage. While the role of anti-apoptotic effect was shown in this protective effect of nicorandil, the contribution of anti-oxidant effect could not be shown. Our study suggests that mito-K_{ATP} channels may play a role in the mechanism of myocardial damage caused by citalopram and nicorandil may have a protective effect.

Keywords: Citalopram, nicorandil, cardiotoxicity, long QT syndrome, K_{ATP} channels.

VI. GİRİŞ VE AMAC

Kardiyovasküler hastalıklar sebebiyle ölümlerin yaklaşık %50'sini ani kardiyak ölüm oluşturmaktadır. Ani kardiyak ölümlerin ise %80-85'i akut ventriküler aritmiler sebebiyle gerçekleşmektedir (1). Uzun QT sendromu (UQTS), elektrokardiyografide (EKG) ventriküler aksiyon potansiyeli depolarizasyon ve repolarizasyonunu temsil eden QT intervalinin uzaması ile karakterize kardiyak bir bozukluktur. Torsades de pointes (TdP) gibi ciddi ventriküler aritmilere ve ani kardiyak ölüme yol açabilmektedir. QT intervalinin kalp hızındaki değişikliklerden etkilenebilmesi sebebiyle klinik pratikte düzeltilmiş QT intervali (QT_c) değeri hesaplanmaktadır. Erkeklerde 450 milisaniye (ms), kadınlarda 470 ms'nin üzerindeki QT_c intervalleri, uzamış QT_c intervali olarak kabul edilir. UQTS, konjenital olabileceği gibi daha sık olarak ilaçlar nedeniyle meydana gelmektedir (2). Bu ilaçlar arasında antidepresanlar [selektif serotonin re-uptake inhibitörleri (SSRİ) (sitalopram, essitalopram), moklobemid, lityum ve trisiklik antidepresanlar], antihistaminikler (loratadin, difenhidramin), antimikrobiyal ilaçlar (siprofloksasin, moksifloksasin, eritromisin, klaritromisin, flukonazol, vorikonazol, pentamidin), antipsikotikler (amisülpirid, klorpromazin, haloperidol, ziprasidon), kardiyak ilaçlar (amiodaron, sotalol, dizopiramid) ve diğer ilaçlar (sisaprid, ondansetron, metadon, arsenik, klorokin) yer almaktadır (2,3).

UQTS'ye yol açan ilaçlardan olan SSRİ'lar; majör depresif bozukluk, anksiyete bozukluğu gibi hastalıkların tedavisi için hem ülkemizde hem de dünyada sıkça kullanılan antidepresan ilaç grubudur. SSRİ'lar geniş terapötik aralığa sahip ilaçlardır ve tedavi dozunda kullanıldıklarında genellikle toksik etkiler beklenmemektedir (4). Sitalopram ise yapıcı diğer SSRİ'lardan farklı olup kardiyotoksikite riski en yüksek SSRİ'dır (5,6). FDA (Food and Drug Administration) ve İngiltere ilaç güvenliği birimleri sitalopramın doz bağımlı olarak QT intervali uzaması, TdP, ventriküler taşikardi ve ani ölüm gibi kardiyak etkilere sebep olabileceği gerekçesiyle doz kısıtlamasına ilişkin uyarılarda bulunmuştur. Bu raporlarda, sitalopramın yetişkinlerdeki maksimum dozunun 40 mg/gün; 60 yaş üzeri, karaciğer yetmezliği, CYP2C19 zayıf metabolizörü olan ve eşzamanlı CYP2C19 inhibitörü kullanan bireylerdeki maksimum dozunun ise 20 mg/gün olması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca QT_c intervali 500 ms ve üzerinde olan bireylerde sitalopram tedavisinin kesilmesi gerektiği belirtilmiştir (7,8).

SSRİ'ların yanlış kullanımları veya intihar amacıyla aşırı doz alımları ciddi zehirlenmelere yol açabilmektedir. İzole SSRİ ilaç zehirlenmelerinde trisiklik antidepresanlara (TSA'lara) kıyasla genellikle daha hafif semptomlar görülmektedir. SSRİ grubu ilaçların neden olduğu zehirlenme bulguları arasında bulantı-kusma, merkezi sinir sisteminde ılımlı depresyon, tremor, baş dönmesi, serotonin sendromu, bulanık görme ve daha az sıklıkta sinüs taşikardisi yer almaktadır. TSA ilaçlara göre daha az antikolinerjik, antihistaminik ve kardiyotoksik etkilere sahip olduklarından; antikolinerjik bulgulara, belirgin sedasyona veya hipotansiyona neden olmaları beklenmemektedir (4,9-11). Sitalopram ise kardiyotoksik etki potansiyeli en yüksek olması sebebiyle rutin kardiyak monitörizasyon gerektiren tek SSRİ'dir (5,6). Sitalopramın hem terapötik doz alımlarında hem de aşırı doz alımlarında kardiyovasküler sistemde, QT/QT_c intervali uzamasını içeren EKG değişiklikleri ve hipotansiyon, bradikardi, taşiaritmi, TdP gibi klinik bulgular görülebilmektedir (10-13).

SSRİ grubu ilaç zehirlenmelerinin dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı incelendiğinde; Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliği 2018 yılı raporunda antidepresan ilaçlar; erişkin hastalarda görülen zehirlenme nedenleri arasında üçüncü (%7.32) sırada olarak bildirilmiştir (14). Ülkemizde SSRİ zehirlenme sıklığının bildirildiği geniş ölçekli güncel literatür bilgisi bulunmamakla birlikte, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Acil Servisi'ne 1993-2004 yılları arasında antidepresan zehirlenmesi ile başvuran hastalarda TSA'lardan (%58.4) sonra en sık kullanılan antidepresan grubu SSRİ'lar (%22.5) olarak bulunmuştur (15).

Ventriküler aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazında potasyum kanallarının açılması önemli rol oynamaktadır. ATP bağımlı potasyum (K_{ATP}) kanalları, içe doğrultucu potasyum kanallarındandır ve vücutta yaygın olarak pek çok doku/organda bulunur (16,17). Kalpte ise sarkolemmal K_{ATP} (sarc-K_{ATP} veya surface-K_{ATP}) kanalı ve mitokondriyal K_{ATP} (mito-K_{ATP}) kanalı olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Kardiyoproteksiyonda esas olarak mito-K_{ATP} kanalları görevlidir (16,17). İlaçların indüklediği UQTS tedavisinde, nikorandil, pinasidil, kromakalim gibi K_{ATP} kanal açıcı ilaçların kullanımı güncel araştırma konusudur (18).

Selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandil, anjina ve akut kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan nitrik oksit (NO) donörü bir ilaçtır (19,20). Özellikle potasyum kanal açıcı özelliği ile QT intervalini ve aksiyon potansiyeli sürelerini kısaltarak ventriküler taşikardileri ve repolarizasyon anormalliklerini önlemektedir. Kalpteki koruyucu etkilerinde, potasyum kanal açıcı özelliğine ek olarak, antioksidan, anti-apoptotik, koroner/periferik vazodilatör

fonksiyonları da rol oynamaktadır (21-26).

Bu çalışmanın amacı, SSRI grubu bir antidepresan olan sitlopramın-indüklediği QT intervali uzaması ve miyokardiyal hasarda selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu rolünün araştırılmasıdır. Standart farmakolojik tedavilere dirençli olan ilaçların indüklediği UQTS tedavisinde yeni farmakolojik ajanlara gereksinim bulunmaktadır. Çalışmamız, özellikle UQTS'ye predispozan risk faktörü taşıyan ve QT interval uzamasına yol açan ilaç tedavisinin kesilemediği olgularda nikorandilin yeni bir tedavi yaklaşımı olarak kullanımı konusunda katkı sağlayacaktır.



VII. GENEL BİLGİLER

VII. A. Uzun QT Sendromu

Tanımı

Uzun QT sendromu (UQTS), elektrokardiyografi (EKG)'de ventriküler depolarizasyon ve repolarizasyonu temsil eden QT intervalinin uzaması ile karakterize olan kardiyak bir bozukluktur. UQTS, özellikle ventriküler aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazının uzamasından kaynaklanan torsades de pointes (TdP) gibi ciddi ventriküler aritmilere ve ani kardiyak ölümlere sebep olabilmektedir. QT intervali kalp hızındaki değişikliklerden etkilenebileceği için, rutin klinikte yaygın olarak Bazett'in formülüne göre düzeltilmiş QT intervali ($QT_c = QT/(RR)^{1/2}$) değeri hesaplanmaktadır. Erkeklerde 450 milisaniye (ms), kadınlarda 470 ms'den yüksek olan QT_c değerleri, uzamış QT intervali olarak kabul edilmektedir. QT_c 'nin >500 ms olması başta TdP olmak üzere ciddi aritmilerle ilişkilendirilmektedir (1,27-30).

UQTS, konjenital ve edinsel tip olmak üzere iki formda gözlenmektedir. Edinsel tip konjenital tipe göre daha sık görülmekte ve başlıca ilaçlara bağlı meydana gelmektedir. İlaçlar dışında elektrolit bozuklukları (hipokalemi, hipomagnezemi, hipokalsemi), metabolik ve kardiyak bozukluklar da edinsel UQTS'ye sebep olabilmektedir (1,27,28).

İlaçla İndüklenen Uzun QT Sendromu ve Mekanizması

Kardiyovasküler ve kardiyovasküler olmayan pek çok ilaç grubu ilaçların indüklediği UQTS'ye sebep olabilmektedir. Bu ilaçlar arasında antidepresanlar [selektif serotonin re-uptake inhibitörleri (SSRI) (sitalopram, essitalopram), moklobemid, lityum ve trisiklik antidepresanlar], antihistaminikler (loratadin, difenhidramin), antimikrobiyal ilaçlar (siprofloksasin, moksifloksasin, eritromisin, klaritromisin, flukonazol, vorikonazol, pentamidin), antipsikotikler (amisülpirid, klorpromazin, haloperidol, ziprasidon), kardiyak ilaçlar (amiodaron, sotalol, dizopiramid) ve diğer ilaçlar (sisaprid, ondansetron, metadon, arsenik, klorokin) yer almaktadır (2,3) (Tablo 1).

Tablo 1. QT intervali uzaması ve torsades de pointese sebep olabilen ilaçlar

İlaç grupları	İlaçlar
Antiaritmikler	
Sınıf IA	Kinidin, Dizopiramid, Prokainamid
Sınıf IC	Flekainid, Propafenon
Sınıf III	Amiodaron, Sotalol, İbutilid, Dofetilid
Antimikrobiyaller, antifungaller, antimalaryaller	
Makrolidler	Eritromisin, Klaritromisin, Azitromisin, Roksitromisin
Antifungaller	Ketokonazol, Flukonazol, Vorikonazol
Antiprotozoal	Pentamidin
Antimalaryaller	Kinin sülfat, Klorokin, Halofantrin
Kinolonlar	Levofloksasin, Moksifloksasin, Sparfloksasin, Grepafloksasin, Siprofloksasin
Antidepresanlar	Amitriptilin, Sitalopram, Essitalopram, Fluoksetin, Desipramin, İmipramin, Klomipramin, Maprotilin, Doksepin, Fluvoksamin, Venlafaksin
Antipsikotikler	Haloperidol, Droperidol, Mesoridazin, Tiyoridazin, Klorpromazin, Amisülpirid, Ziprasidon, Pimozid, Risperidon, Sertindol
Antiemetikler	Ondansetron, Dolasetron, Granisetron
Antihistaminikler	Terfenadin, Astemizol, Hidroksizin, Difenhidramin
Opiyatlar	Metadon, Levometadil
Antineoplastik	Arsenik trioksit
Gastrointestinal ilaçlar	Sisapirid, Domperidon, Metoklopiramid
Diğer	Tamoksifen, Anagrelid, Probukol, Kokain, Bepridil, Takrolimus

Kardiyak miyositlerde aksiyon potansiyelinin düzenlenmesinde eş zamanlı pek çok iyon akımı görev almaktadır. Ventriküler depolarizasyon başlıca Na^+ ve Ca^{+2} kanalları yoluyla olan içe doğrultucu depolarizan akımlar aracılığıyla meydana gelirken; ventriküler repolarizasyon başlıca K^+ kanalları yoluyla dışa doğrultucu repolarizan akımlar aracılığıyla gerçekleşmektedir (1,31). İlaçların indüklediği UQTS mekanizmasının büyük bir kısmı, potasyum hERG kanalı olarak bilinen (yeni isimlendirmede KCNH2), hERG geni (human ether-a-go-go related gene) ile kodlanan gecikmeli doğrultucu potasyum akımının hızlı komponentinin (IKr) inhibisyonu ile ilişkilidir. IKr akımı, ventriküler aksiyon potansiyeli süresini düzenlediği için IKr/HERG 'i inhibe eden ilaçlar ventriküler repolarizasyonu geciktirmekte ve bu nedenle de QT intervalinin uzamasına neden olmaktadır (32). Uzun repolarizasyon süresi, kardiyak aksiyon potansiyelinin faz 2 veya 3'ü sırasında meydana gelen erken ard depolarizasyonlara (EAD) neden olabilmektedir. EAD'ler dışa doğru olan akımların azalması (K^+) veya içe doğru olan akımların (Na^+ veya Ca^{+2}) artması sonucunda meydana gelmekte, eşik değere ulaşarak tüm kalbe yayılması durumunda da ventriküler ektopik atımlara ve QT intervalinde uzamaya sebep olmaktadır. Daha az sayıdaki ilaç grubu ise QT intervali uzamasına Na^+ (beta-blokörler, antihistaminikler, trisiklik antidepresanlar ve fenotiyazinler vb.) ve Ca^{+2} akımları (antimon) üzerinden sebep olmaktadır (2).

Farmakokinetik ilaç-ilaç etkileşimleri de ilaçların indüklediği UQTS mekanizmaları arasında yer almaktadır. Amiodaron, makrolid antibiyotikler, ketokonazol, simetidin, proteaz inhibitörleri gibi QT intervalini uzattığı bilinen pek çok ilaç sitokrom p450 izoenzimlerini (özellikle CYP3A4) inhibe etmektedir. Bu nedenle bu ilaçların eş zamanlı kullanılması durumunda CYP3A4 substratı olan ilaçların torsadojenik potansiyelinin artabileceği vurgulanmaktadır (27,30).

Uzun QT Sendromu Tedavisi

İlaçların indüklediği UQTS ve TdP'nin tedavisi genellikle kısa süreli tedavileri içermektedir. Uzun süreli tedavi ise nadiren gerekmektedir. İlk olarak QT intervali uzamasına sebep olan ilaçlar hızlıca kesilmeli, elektrolit anormallikleri veya predispozan diğer patolojiler düzeltilmelidir (33,34). İntravenöz (i.v) magnezyum sülfat, geçici transvenöz pace, izoproterenol ve sodyum bikarbonat ile plazma alkalinizasyonu UQTS ve ilişkili TdP tedavisinde başlıca yararlı kısa süreli tedavi seçenekleridir. İ.v magnezyum sülfat tedavisinin mekanizması net olmamakla birlikte etkisini Na^+ ve Ca^{+2} akımlarının blokajı yoluyla EAD

amplitüdünü azaltarak gösterdiği düşünülmektedir (35,36). Magnezyum sülfat tedavisi sonrasında uygulanan 90-110 atım/dk hızındaki transvenöz pace'in repolarizan K⁺ akımını artırdığı, QT_c intervalini kısalttığı, EAD amplitüdünü azalttığı bildirilmektedir (29,34). İ.v izoproterenol ise nadiren gerekmele birlikte, magnezyum tedavisine cevap vermeyen hastalarda pace öncesi geçici bir önlem olarak sinusal kalp hızını artırmak, QT intervalini kısaltmak için beta-adrenerjik reseptör stimülasyonu amacıyla kullanılabilir. Lidokain ve fenitoin gibi sınıf IB antiaritmik ilaçların küçük vaka serilerinde aksiyon potansiyeli sürelerini kısaltarak TdP ve ventriküler fibrilasyonun akut tedavisinde etkili olabilecekleri belirtilmiştir. Bunların yanı sıra sodyum bikarbonat ile plazma alkalinizasyonunun (kinidine bağlı TdP gelişen hastalarda) ve i.v potasyum tedavisinin de QT intervali uzamasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Hasta sinüs sendromu veya atriyoventriküler (AV) bloğa bağlı kronik bradikardi vakalarında ise kalıcı pace uygulaması QT intervali uzamasının uzun süreli tedavisi amacıyla gündeme gelmektedir (18,34,37,38). Potasyum kanal açıcılar (nikorandil, pinasidil, kromakalim vb.), atropin, kalsiyum kanal blokörleri, alfa adrenerjik reseptör blokörleri de UQTS ve TdP tedavisinde potansiyel tedavi seçenekleri olarak halen araştırılmaya devam edilmektedir (18).

VII. B. Selektif Serotonin Geri-Alım (Re-Uptake) İnhibitörleri

Genel Özellikler

Selektif Serotonin Geri-Alım (Re-Uptake) İnhibitörleri (SSRİ), majör depresif bozukluk, anksiyete, obsesif kompulsif bozukluk, panik bozukluk, travma sonrası stres bozukluğu ve beden dismorfik bozukluğu gibi psikiyatrik durumların tedavisi için kullanılan antidepresan ilaçlardır. (39,40). Antidepresan ilaçların geliştirilmesinde farklı tarihsel aşamalar mevcuttur. Fluoksetin, 1987 yılında FDA (Food and Drug Administration) tarafından onay alan ilk SSRİ olarak kullanıma girmiştir. Bunu 1991'de sertraline, 1993'te paroksetin, 1998'de sitaloqram ve 2002'de essitaloqram izlemiştir. SSRİ'lar, trisiklik antidepresanlar (TSA'lar) ile benzer klinik sonuçlar veren fakat tolere edilebilirlik, güvenlilik gibi sebeplerle en sık reçete edilen antidepresan ilaç grubudur (41,42).

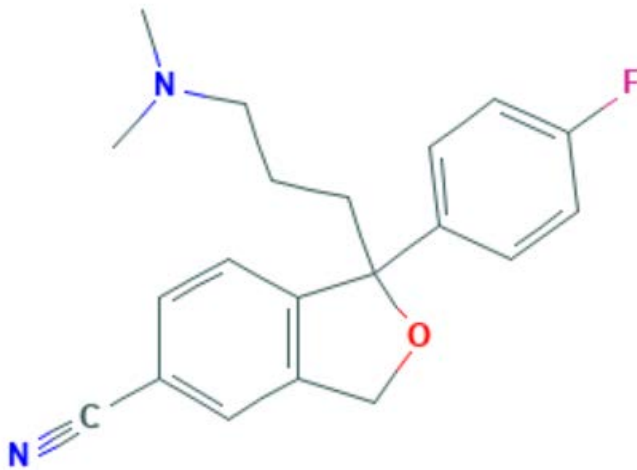
Tedavi dozunda güvenli ilaçlar olarak kabul edilen SSRİ'ların yanlış kullanımları veya intihar amacıyla aşırı doz alımları zehirlenmelere yol açabilmektedir. Amerikan Zehir Kontrol

Merkezleri Birliği 2018 yılı raporuna göre antidepresan ilaçlar; erişkin hastalarda görülen zehirlenme nedenleri arasında üçüncü (%7.32), tüm maddelerle zehirlenmelerde en sık karşılaşılan zehirlenme nedenleri arasında ise beşinci (%5.22) sırada olarak bildirilmiştir.  l mle sonuçlanan tüm zehirlenme nedenleri arasında SSRİ'lar dokuzuncu (%3.01) sırada rapor edilmektedir (14). Ülkemizden bir çalışmada ise Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Acil Servisi'ne 1993-2004 yılları arasında antidepresan zehirlenmesi ile başvuran hastalarda TSA'lardan (%58.4) sonra en sık kullanılan antidepresan grubu SSRİ'lar (%22.5) olarak bulunmuştur (15).

VII. C. Sitalopram

Sitalopramın Kimyasal Yapısı

Sitalopram (1-[3-(dimetilamino)propil]-1-(4-florofenil)-3H-2-benzofuran-5-karbonitril]) kimyasal formülü $C_{20}H_{22}BrFN_2O$ olan şiral molekül yapısında (ayna görüntüsü kendisi ile üst üste çakışmayan molekül) bir merkeze sahip, tersiyer aminoasid yan zinciri bulunan fitalen derivativesi oldukça lipofilik bir moleküldür (şekil 1).



şekil 1. Sitalopramın kimyasal yapısı (43).

Sitalopramın Farmakolojik Özellikleri

Farmakodinamik özellikleri

Sitalopram, presinaptik nöronlarda serotonin geri alımını selektif olarak inhibe ederken, norepinefrin, dopamin üzerinde minimal etkiye sahiptir. *İn-vitro* çalışmalarda sitalopramın, postsinaptik serotonin 5-HT reseptörleri (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} ve 5-HT_{2C}), α_1 , α_2 , β_1 , β_2 adrenerjik reseptörler, muskarinik, histamin H₁, dopamin D₁, D₂, benzodiazepin, opioid ve γ -aminobutirik asit (GABA) reseptörlerine düşük afinite gösterdiği doğrulanmıştır (44,45). 1:1 oranında karışım (rasemik) şeklinde bulunan sitalopramın S-(+) enantiyomeri (essitalopram) başlıca serotonin geri alımından sorumludur. R-(-) enantiyomerinin (R-sitalopram) ise sıçan beyninde yapılan *in-vitro* bir çalışmada essitaloprama göre 150 kat daha az potent olduğu gösterilmiştir. *İn-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarda sitalopramın en selektif SSRİ olduğu ve yine bu ilaçlar arasında en potent üç ilaçtan (sertralin ve paroksetin ile birlikte) biri olduğu vurgulanmıştır (44,46).

Farmakokinetik özellikleri

Emilim: Sitalopram gastrointestinal sistemden tamamen emilir. Tepe plazma konsantrasyonuna 2-4 saatte ulaşılır. Oral yolla alınan sitalopramın sistemik biyoyararlanımı %80'dir. Besinlerin sistemik biyoyararlanım üzerine etkisi yoktur. 10-60 mg/gün doz aralığında lineer farmakokinetik gösterir (47,48). Bireyler arası plazma düzeylerindeki varyasyonlar cinsiyet ve yaştan (65 yaşa kadar) bağımsız olarak yaklaşık 7 kattır. Bireysel varyasyonlar ise %15 olarak öngörülmektedir (45).

Dağılım: Oldukça lipofilik bir molekül olan sitalopramın sanal dağılım hacmi (V_d) 12-16 L/kg'dır. Kanda %80 oranında proteinlere bağlanır (45,49,50).

Metabolizma: Sitalopram karaciğerde başlıca N-demetilasyon, deaminasyon ve N-oksidasyon ile metabolize edilir. Üç aktif [(desmetilsitalopram (DCT), didesmetilsitalopram (DDCT), sitalopram-N-oksid] ve bir deamine inaktif metabolit (propiyonik asit türevi)] olmak üzere karaciğerde dört metabolitine parçalanır. *İn-vitro* çalışmalarda sitalopramın serotonin geri alım inhibisyonunda metabolitlerine göre 8 kat daha potent olduğu bildirilmiştir. Yıkımında görevli majör yolak enzimleri CYP3A4 ve CYP2C19 iken, minör yolak enzimi CYP2D6'dır (47,50-52). Sitalopram ayrıca CYP2D6 zayıf inhibitörü olarak belirtilmektedir (53). Bu üç sitokrom P450 enzimi ile yıkıma uğrayan sitalopramdan ana metabolit olan DCT oluşur. DCT

plazmada kararlı durumdaki ana ilacın 1/2'si konsantrasyonunda bulunur ve CYP2D6 izoenzimi ile ileri demetilasyona uğrayarak DDCT oluşur. DDCT ise plazmada kararlı durumdaki ana ilacın 1/10'u konsantrasyonunda bulunur (47,49). Monoamin oksidaz A (MAO-A) ve B (MAO-B), aldehid oksidaz ile oksidasyon sonucunda ise propiyonik asit türevi ve sitalopram-N-oksit oluşur (45). DDCT insanlarda genellikle minör bir metabolit olmasına karşın sitalopramın QT_c intervali uzatıcı etkilerinden sorumlu olabileceği belirtilmektedir. Özellikle CYP2D6 ultra-hızlı metabolize edici kişilerde artmış DDCT konsantrasyonunun QT interval uzaması ve TdP riskini artırabileceği bildirilmiştir (54). CYP2C19'u zayıf metabolize edici kişilerde sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırıldığında; sitalopramın plazma maksimum ilaç konsantrasyonunun (C_{max}) %68, eğri altında kalan alanın (EAA) ise %107 arttığı bildirilmiştir (47).

Atılım: Sitalopramın atılımı bifazik özellik gösterir. Dağılım fazı yaklaşık 10 saat sürmektedir. Eliminasyon yarı ömrü (t_{1/2}) sitalopram için 30-35 saat, DCT için 50 saat ve DDCT için 100 saat olarak rapor edilmiştir. Sitalopram görece uzun bir yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle günde bir kez uygulanabilmektedir. Karaciğer fonksiyon bozukluğuna sahip bireylerde sitalopramın t_{1/2} 'si iki katına çıkmakta, yaşlı hastalarda (≥60 yaş) ise %30-50 artış göstermektedir (45,51,52).

Sitalopramın yaklaşık %12-23'ü idrarla değişmeden atılırken, yaklaşık %10'u dışkıyla atılır (55). Renal klerens 2.8-3.3 L/saat, sistemik klerens ise 23-28 L/saat olarak tahmin edilmektedir (45). Oral yolla uygulanan sitalopramın sistemik klerensi; böbrek fonksiyonlarında azalma olan bireylerde %17; karaciğer fonksiyonlarında azalma olan bireylerde ise %37 oranında azaldığı bildirilmiştir (47).

Sitalopramın Toksik Dozu

SSRİ grubu antidepresanlar tedavi dozunda kullanıldıklarında genel olarak güvenli kabul edilmekle birlikte, sitalopram SSRİ'lar arasında en yüksek kardiyak ve nörolojik toksisite potansiyeline sahip antidepresan olarak bildirilmektedir (5). FDA ve İngiltere ilaç güvenliği birimleri sitalopramın doz bağımlı olarak QT intervali uzamasına bunun sonucunda da TdP, ventriküler taşikardi ve ani ölüme sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Olası bu kardiyak riskler sebebiyle FDA 2011 yılında sitalopramın yetişkinlerdeki maksimum dozunun 40 mg/gün; 60 yaş üzeri, karaciğer yetmezliği, CYP2C19 zayıf metabolizörü olan ve eşzamanlı CYP2C19 inhibitörü kullanan bireylerdeki maksimum dozunun ise 20 mg/gün olması gerektiğini rapor

etmiştir. FDA'in 2011 yılındaki önerilerinde, QT_c intervali 500 ms ve üzerinde olan bireylerde sitalopram tedavisinin kesilmesi gerektiği de vurgulanmıştır (7,8). Yetişkin sağlıklı gönüllülerde yapılmış, oral yolla sitalopram kullanımının incelendiği bir klinik araştırmada, 20 mg/gün sitalopram alan bireylerin QT_c intervalinin ortalama 8.5 ms, 40 mg/gün sitalopram alan bireylerin QT_c intervalinin ortalama 12.6 ms ve 60 mg/gün alan bireylerin ise QT_c intervalinin 18.5 ms uzadığı bildirilmiştir (47).

Sitalopram maruziyetinin akut toksik dozu değerlendirildiğinde 100 mg'a kadar olan alımların toksisite ile sonuçlanması beklenmemektedir. 600 mg ve altındaki sitalopram dozlarının hafif klinik bulgulara neden olduğu, bu dozun üzerindeki alımlarda kardiyak (QRS-QT intervali uzaması, aritmi, bradikardi vb.) ve nörolojik (senkop, konvülsiyon vb.) bulguların görülme riskinin arttığı rapor edilmiştir (56). Isbister ve arkadaşlarının SSRİ grubu antidepresanların kardiyak toksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada sitalopramın, fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin ve sertralin gibi diğer SSRİ'lar arasında aşırı doz alımlarında rutin kardiyak monitörizasyon gerektiren tek SSRİ olduğu vurgulanmıştır. Yine bu çalışmada yüksek dozda alınan sitalopramın diğer dört SSRİ ilaç grubuna göre QT ve QT_c intervallerini anlamlı olarak uzattığı rapor edilmiştir (6). Sitalopram, mirtazapin, venlafaksin aşırı doz kullanımı sebebiyle acil servise başvuran 541 hastanın incelendiği retrospektif bir çalışmada, bu üç antidepresan arasında, QT_c intervalinin 440 ms'den daha yüksek değerlere uzamasıyla en fazla sitalopramın ilişkili olduğu bildirilmiştir (57). Literatürde 3920 mg ve 2800 mg sitalopram aşırı doz alımlarına (ek ilaç alımının eşlik etmediği) bağlı ölüm vakaları rapor edilmiştir. Bununla birlikte 400 mg kadar az sitalopram alımı sonrasında bile QT intervali uzamasını içeren kardiyovasküler değişiklikler ve nöbetlerin görüldüğü olgular da mevcuttur (5,11,57,58).

Sitalopramın Toksik Etki Mekanizması

Sitalopramın presinaptik nöronlarda serotonin geri alımını selektif olarak inhibe ettiği; adrenerjik, dopamin, histamin, GABA ve muskarinik reseptör subtiplerine ise çok az afinite gösterdiği ya da hiç afinite göstermediği bildirilmektedir. Bu reseptörler üzerinde etkisinin minimum olması nedeniyle sitaloprama bağlı konstipasyon, bulanık görme ve ortostatik hipotansiyon gibi advers etkiler daha az görülmektedir (59).

Sitalopramın QT intervali uzatıcı etkisinin mekanizması ilaçların indüklediği UQTS mekanizması ile benzerdir. Yapılan deneysel çalışmalar, sitalopramın kalpte IKr/hERG

akımını, gecikmeli doğrultucu potasyum akımının yavaş komponentini (IKs) ve L tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum akımının geç komponentini (ICaL) inhibe ettiğini desteklemektedir (60). Ayrıca sitalopramın metabolitleri olan DCT ve DDCT'nin de IKr ve IKs akımlarını inhibe ettiği bildirilmiştir. HERG potasyum kanalları normal kardiyak ritmin devamında önemli bir role sahiptir. HERG/IKr akımı inhibisyonu, aksiyon potansiyeli süresinde uzama özellikle de repolarizasyon fazının (faz 3) gecikmesiyle ilişkilidir. Sitalopramın bu akımları (IKr/hERG, IKs, ICaL) inhibe etmesinin; kalp kontraktilitesinde, kalp atım hızında ve AV iletimde azalmaya ve dolayısıyla EKG'de AV ileti bozuklukları, PR ve QT intervali uzamasına sebep olabileceği rapor edilmiştir (60-66).

İzole kalp dokularında yapılan çalışmalarda fluoksetin ve sitalopramın kardiyak Na⁺ ve Ca²⁺ kanallarını inhibe ettiği ve bu elektrofizyolojik etkilerin TSA'lardan klomipramin ve imipramin ile benzer olduğu gösterilmiştir. Ayrıca fluoksetin ve sitalopramın proaritmik etkilerine ek olarak antiaritmik etkilerinin de (sınıf I ve IV tipte) olabileceği belirtilmiştir (67). Pousti ve arkadaşlarının izole kobay atriyumunda yaptıkları çalışmada sitalopramın negatif inotrop ve negatif kronotrop etkilere neden olduğu gösterilmiştir (68). Oransay ve arkadaşlarının Wistar cinsi sıçanlarda yaptıkları çalışmada, sitalopram infüzyonundan önce uygulanan selektif adenosin A₁ reseptör antagonisti DPCPX'in (8-Cyclopentyl-1,3-Dipropylxanthine) yüksek doz sitalopramın oluşturduğu QT interval uzamasını engellediği gösterilmiştir. Bu çalışmada sitalopramın plazma adenosin düzeylerini arttırmadan endojen adenosinin oluşturduğu kardiyovasküler etkileri potansiyalize ettiği bildirilmiştir (69). Büyükeligöz ve arkadaşların yaptıkları çalışmada ise, sitalopram infüzyonundan sonra uygulanan selektif adenosin A₁ reseptör antagonisti DPCPX'in sitalopramın oluşturduğu QT interval uzamasını geri çevirdiği gösterilmiştir (10). Literatürdeki bu çalışmaların sonuçları sitalopram ile indüklenen kardiyovasküler toksisitenin mekanizmasında adenosin A₁ reseptör stimülasyonunun da rol oynayabileceğini göstermektedir (10,69,70).

Sitalopram Zehirlenmesinde Klinik Belirti ve Bulgular

Kardiyovasküler sistem belirti ve bulguları: Terapötik dozda sitalopram kullanımında EKG anormallikleri TSA'lara göre daha az sıklıkta görülmekle birlikte aşırı doz sitalopram alımında QRS genişlemesi (>600 mg dozlarda), QT_c intervali uzamasını içeren EKG değişiklikleri; hipotansiyon, taşiaritmiler (sinüs taşikardisi, supraventriküler taşikardi vb.),

bradikardi, TdP, inferolateral repolarizasyon anormallikleri ve sol dal bloğu gibi klinik bulgular bildirilmiştir (11,70-73).

Merkezi sinir sistemi belirti ve bulguları: Sitalopram zehirlenmesinde en sık gözlenen merkezi sinir sistemi bulguları; baş ağrısı, baş dönmesi, sedasyon, tremor, nöroleptik malign sendrom, nöbet, serotonin sendromu, somnolans ve senkoptur (11,51,74,75). Serotonin sendromu tanısı Hunter kriterlerine göre konulmaktadır. Bu kriterlere göre serotonerjik ajan alım öyküsü olan kişide spontan klonus, indüklenabilir klonus, oküler klonus, ajitasyon/diyaferez, tremor, hiperrefleksi, hipertoni ve hipertermi gibi bulgular değerlendirilmektedir. Serotonin sendromu, aşırı doz SSRİ alımlarında görülebildiği gibi, terapötik dozda eş zamanlı SSRİ ve MAO inhibitörü alımlarında da görülebilmektedir (76).

Diğer sistem belirti ve bulguları: Sitalopram zehirlenmelerinde kardiyovasküler sistem ve/veya merkezi sinir sistemi bulguları ön planda olmakla birlikte diğer sistemlerde de çeşitli toksik etkiler görülebilmektedir. Bu etkiler başlıca, solunum sisteminde akut akciğer hasarı (77); gastrointestinal sistemde bulantı-kusma (51,74), anoreksi ve dispepsi (51); genitoüriner sistemde böbrek yetmezliği (77) ve priapizm (78); endokrin sistemde hipoglisemi (79); sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesi bozukluklarıdır (11). Ayrıca sitalopram aşırı doz alımlarında görülen şiddetli hipogliseminin nöbet riskini artırabileceği bildirilmektedir (79).

Sitalopram Zehirlenmesinde Tanı

Sitalopram zehirlenmesinde tanı klinik belirti-bulgular ve EKG sonuçlarının değerlendirilmesiyle konmaktadır. Depresyon öyküsü olup letarji, koma ve konvülsiyon gelişen hastalarda antidepresan ilaç zehirlenmesi düşünülmelidir. Serum ve idrarda ilaç düzeylerinin ölçümü zor olup terapötik/advers etkilerle korelasyon göstermemektedir ve akut sitalopram zehirlenmesi tedavi yönetimine katkısı bulunmamaktadır (80).

Sitalopram Zehirlenmesinde Tedavi

Acil ve destek tedavi

Tüm zehirlenmelerde olduğu gibi sitalopram zehirlenmesinde de temel yaklaşım öncelikle havayolu, solunum ve dolaşımın (A,B,C) değerlendirilmesi ile başlamalıdır.

İlımlı toksisite durumunda çoğu hastada sadece destek tedavi yeterli olmaktadır. Ajitasyon ve konfüzyon, benzodiazepinler veya serotonin antagonistleri (siproheptadin veya

klorpromazin vb.) ile kontrol edilmelidir. Hipertansiyon ve taşikardi genellikle hafif seyretmekte ve spesifik tedavi gerektirmemektedir.

Ciddi toksisite durumunda hastada eğer solunum depresyonu, nöromusküler paralizi gibi bulgular mevcutsa erken entübasyon ve solunum desteği düşünülmelidir. Hastada dolaşım kollapsı mevcutsa i.v sıvılar (10-20 mL/kg) ve gerekirse vazopressörlerle (dopamin veya norepinefrin) yeterli dolaşım desteği sağlanmalıdır. Nöbet tedavisi için benzodiazepinler (diazepam 5-10 mg i.v veya lorazepam 2-4 mg i.v) tercih edilmeli, tekrarlayan nöbet olması durumunda barbitürat veya propofol kullanılmalıdır. Geniş kompleks disritmileri olan hastalar hipertonic sodyum bikarbonat bolusu ile tedavi edilmelidir. TdP görülmesi durumunda 2 g i.v magnezyum sülfat, internal/eksternal kardiyak pace gibi standart tedaviler uygulanmalıdır. Ayrıca QT intervali uzaması ile ilişkili olabilecek elektrolitlerin (K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2}) optimize edilmesi gerekliliği de unutulmamalıdır (5,56,81).

Dekontaminasyon

Yüksek doz sitaloqram alımlarında (>600 mg) uygun bilinç düzeyine sahip hastalara alım sonrası ilk bir saat içinde başvurduğu durumlarda mide lavajı (orogastrik tüp ile ve solunum yolu kontrol altına alınarak) ve aktif kömür uygulaması (1 g/kg) önerilmektedir. Sürekli salıveren formülasyona sahip ilaçlarda ise bir saatten sonraki başvurularda da mide lavajı uygulanabileceği belirtilmektedir. Isbister ve arkadaşlarının yaptıkları retrospektif bir çalışmada, sitaloqram aşırı doz alımlarında tek doz aktif kömür uygulaması ile QT intervali uzaması arasında ilişki incelenmiş, bu uygulamanın QT interval uzaması riskini azaltmada etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Altı yüz mg'dan fazla olan sitaloqram alımlarında hastaya ilk 4 saat içinde aktif kömür uygulanmamışsa 11 saat kardiyak monitorizasyon (>1000 mg alımlarda 13 saat) önerilmektedir (11,56,82).

Sitaloqramın V_d 'si ve proteinlere bağlanma oranının yüksek olması sebebiyle eliminasyonu artırıcı yöntemlerin (hemodiyaliz, hemoperfüzyon ve zorlu diürez) zehirlenme tedavisinde rolü yoktur (45,56,80).

Özgül antidotlar ve diğer tedavi seçenekleri

Sitaloqram zehirlenmelerine spesifik herhangi bir antidot tedavisi bulunmamaktadır. Hastada mevcut olan veya gelişebilecek klinik bulgulara yönelik semptomatik destek tedaviler uygulanmaktadır. Serotonin sendromu gelişmesi durumunda antidot olarak 5-HT₂

reseptörlerine yüksek afinite gösteren siproheptadin (yetişkinde: 12 mg oral yolla veya nazogastrik tüp ile, semptomların persiste etmesi durumunda takiben her 4-6 saatte bir 4-8 mg olacak şekilde maksimum 32 mg/gün; çocukta: 0.25 mg/kg/gün oral yolla veya nazogastrik tüp ile bölünmüş dozlarda, maksimum 12 mg/gün) önerilmektedir. Ciddi serotonin sendromu vakalarında 5-HT₂ antagonisti etkiye sahip bir antipsikotik ilaç olan klorpromazin de (yetişkinlerde 12.5-50 mg İV, takiben her 6 saatte bir 25-50 mg) uygulanabilmektedir. Ancak ciddi hipotansif etkiye sebep olabileceği gerekçesiyle genellikle önerilmemektedir (56).

Sitalopramın yağda çözünenebilen bir ilaç olması sebebiyle intravenöz lipid emülsiyon (İLE) tedavisinin, bazı hayvan çalışmaları ve klinik durumlarda, diğer tedavilere yanıt vermeyen hipotansiyon/ventriküler disritmilerin tedavisinde etkili olabileceği bildirilmiştir. Ancak mevcut verilerin sonuçlarının çelişkili olması sebebiyle özellikle hayatı tehdit edici toksisite olmayan durumlarda İLE birinci basamak tedavi olarak önerilmemektedir. Standart tedavilere cevap vermeyen ve ciddi semptomları olan hastalar dışında İLE tedavisinin düşünülmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (56,83,84).

VII. D. ATP Bağımlı Potasyum Kanalları

Uyarılabilir hücrelerdeki potasyum akımları membran aksiyon potansiyeli karakteristiklerinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Potasyum kanallarının açılması membranları hiperpolarize etmekte ve aksiyon potansiyelinin repolarizasyonuna sebep olmaktadır.

İçe doğrultucu potasyum kanallarının bir üyesi olan ATP bağımlı potasyum (K_{ATP}) kanalları, metabolik değişikliklere cevap olarak özellikle de ATP seviyesinde azalma veya ADP seviyesinde artış durumlarında açılan kanallardır (16).

K_{ATP} kanalları vücutta yaygın olarak bulunmaktadır. İlk olarak kardiyak miyositlerde tanımlanmış, sonrasında pankreas β hücreleri, iskelet kası, nöronlar, düz kas, hipofiz, böbrek ve epitel hücrelerinde de varlığı gösterilmiştir. Pankreasta insülin sekresyonu, nöronlarda transmitter salınımı, düz kasta vasküler tonusun sağlanması gibi birçok fizyolojik olayda görev almaktadır (16,17).

K_{ATP} kanalları yapıca K_{IR6x} (6.1 veya 6.2) ve sülfonilüre reseptörü ($SURx$) (1,2A,2B) alt birimlerine sahip hetero-oktamerik kanallardır. K_{IR6x} alt birimi tetramerik yapıdadır ve her alt

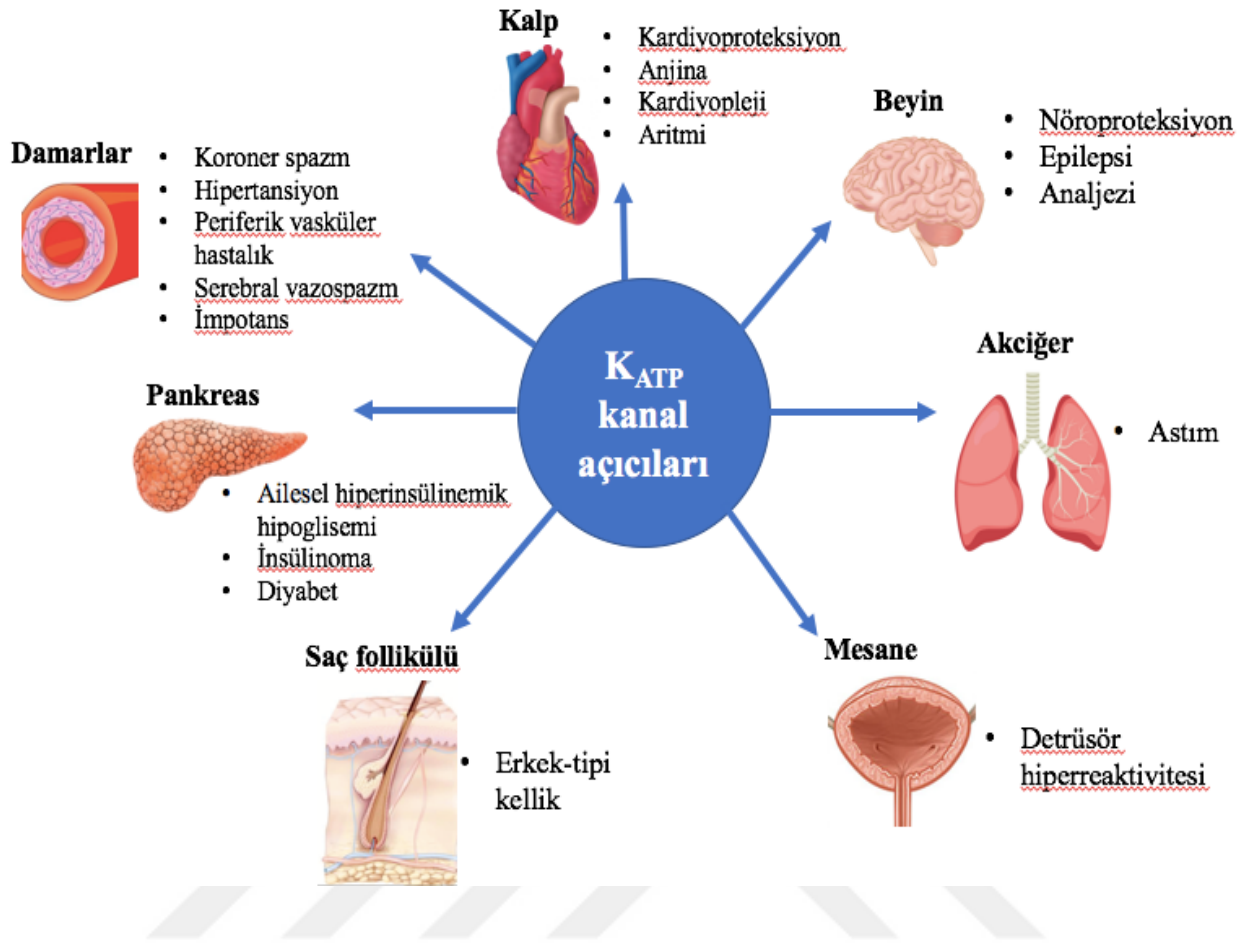
Tablo 2. K_{ATP} kanalı izoformları

Doku	K_{IR} alt birimi	SUR alt birimi
Pankreas	K _{IR} 6.2	SUR1
Nöronlar	K _{IR} 6.2	SUR1/2B
İskelet kası	K _{IR} 6.2	SUR2A
Düz kas	K _{IR} 6.1/6.2	SUR2B

Tablo 3. Kardiyovasküler sistemdeki K_{ATP} kanallarının doku-spesifik dağılımları

Doku	K_{IR} alt birimi	SUR alt birimi
Kalp-ventriküller	K _{IR} 6.2	SUR2A
Kalp-atriyum	K _{IR} 6.2	SUR1
Kardiyak ileti sistemi	K _{IR} 6.1/6.2	SUR2B
Vasküler düz kas	K _{IR} 6.1	SUR2B

K_{ATP} kanal açılmasını destekleyen veya inhibe eden birçok inorganik bileşik bulunmaktadır; bunlar K_{ATP} kanal açıcıları (nikorandil, minoksidil, pinasidil, kromakalim/levkromakalim/rimakalim, diazoksit, HMR 1098 vb.) veya inhibitörleri/blokörleri [(klorpropamid, tolbutamid, glibenklamid gibi sülfonilüre grubu antidiyabetikler), 5-hydroxydecanoate (5-HD) vb.] olarak adlandırılmaktadır (86,87). K_{ATP} kanal açıcıları, kardiyoprotektif, bronkodilatör, mesane gevşetici, adacık hücre koruyucu, antiepileptik, saç büyümesini destekleyici etkileri nedeniyle klinik olarak ümit vadetmektedir (88) (Şekil 3).



Şekil 3. K_{ATP} kanal açıcılarının terapötik olarak kullanıldığı/araştırıldığı klinik durumlar*

*88' nolu literatürden Türkçeleştirilerek adapte edilmiştir.

Kardiyak K_{ATP} Kanalları

Miyokardiyal K_{ATP} kanalları; sarkolemmada lokalize olan sarkolemmal K_{ATP} (sarc-K_{ATP} veya surface-K_{ATP}) kanalı ve mitokondri iç membranında lokalize olan mitokondriyal K_{ATP} (mito-K_{ATP}) kanalı olmak üzere başlıca iki tip olarak tanımlanmıştır. Mito-K_{ATP} kanalları genellikle iskemik hasara karşı kardiyoproteksiyonda rol oynarken; sarc-K_{ATP} kanalları özellikle membran hiperpolarizasyonuna katkıda bulunmaktadır (86,89).

K_{ATP} kanal açıcı ve blokörü ilaçların kalp ve diğer dokularda etki gösterdikleri K_{ATP} kanal tipleri Tablo 4'te gösterilmiştir (16,90-92).

Tablo 4. K_{ATP} kanal açıcı ve blokörü ilaçların farmakolojik özellikleri

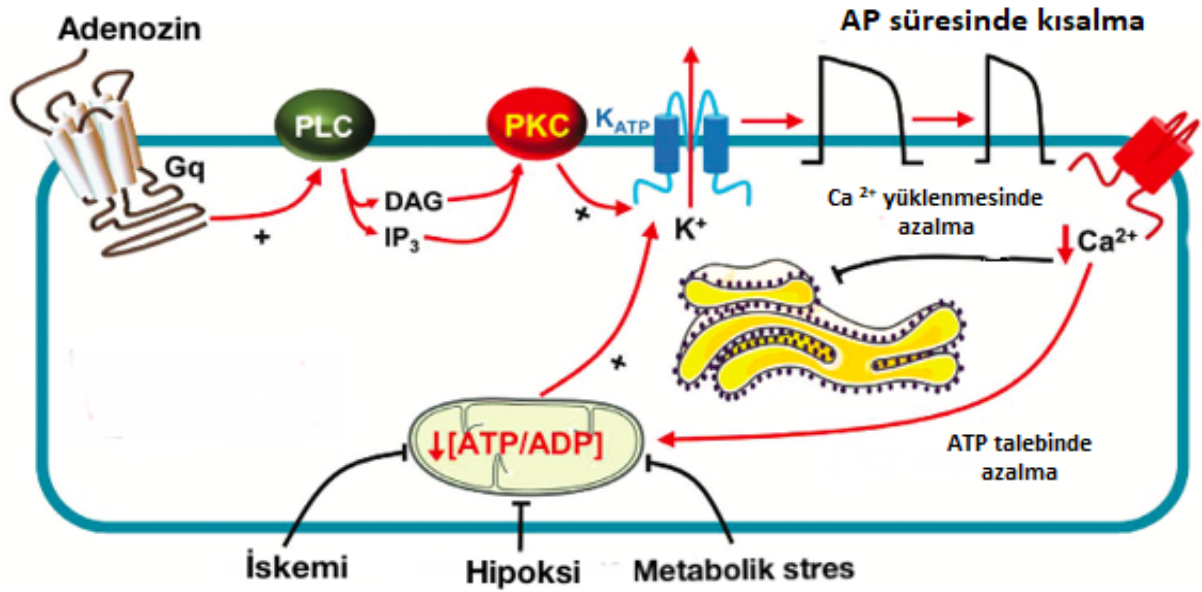
	İlaç	Kimyasal sınıf	K _{ATP} kanalı tipi	Aynı sınıf diğer ilaçlar
K_{ATP} kanal açıcıları	Pinasidil	Siyanoguanidin	Mito-K _{ATP} , sarc-K _{ATP} , düz kas K _{ATP}	P-1075, PNU-99963, PNU-9470
	Diazoksit	Benzotiyadiazin	Mito-K _{ATP} , düz kas K _{ATP} , pankreatik K _{ATP}	LN-5330
	Kromakalim	Benzopiran	Düz kas K _{ATP} , mito-K _{ATP} , sarc-K _{ATP}	Levkromakalim, bimakalim, selikalim, rilmakalim, Y-27152
	Nikorandil	Piridil nitrat	Mito-K _{ATP}	KRN-2391
	Minoksidil	Pirimidin sülfat	Sarc-K _{ATP} , mito-K _{ATP} ,	LP-805
	Aprikalim	Karbotiamid	Mito-K _{ATP}	MCC-134
	WAY-151616	Siklobutenedion	Düz kas K _{ATP}	WAY-133537
	ZM-244085	Dihidropiridin	Düz kas K _{ATP}	ZD-0947
	ZD-6169	Tersiyer karbinol	Düz kas K _{ATP}	A-151892
	Tolbutamid	Sülfonilüre	Pankreatik K _{ATP}	Klorpropamid, asetoheksamid, tolazamid
K_{ATP} kanal blokörleri	Glibenklamid	Sülfonilüre	Sarc-K _{ATP} , mito-K _{ATP} , düz kas K _{ATP} , pankreatik K _{ATP}	Glipizid, glimepirid
	Meglitinid	Benzoik asit türevi	Pankreatik K _{ATP}	Repaglinid, nateglinid, mitiglinid
	HMR-1098	Sülfonilüre	Sarc-K _{ATP}	HMR-1883
	5-hydroxydecanoate	Dekanoik asit türevi	Mito-K _{ATP}	-

Kardiyovasküler Sistemdeki K_{ATP} Kanallarının Patofizyolojik Fonksiyonları

Kardiyoproteksiyon

Kalpdeki K_{ATP} kanalları, normal fizyolojik koşullarda bu dokudaki yüksek intrasellüler ATP varlığı sebebiyle inaktif haldedir. Kardiyak iş yükü artışı, hipoksi ve iskemi gibi metabolik bozukluklarda K_{ATP} kanalları açılmakta ve kardiyoprotektif etkiler göstermektedir (86).

Hipoksi, iskemi gibi ciddi metabolik hasara yol açılan durumlar ya da adenozin-fosfolipaz C-protein kinaz C yolları ile K_{ATP} kanallarının aktivasyonu, kardiyak aksiyon potansiyeli süresini kısaltmaktadır. K_{ATP} kanallarının açılması başlıca koruyucu mekanizmadır; çünkü K^+ iletimindeki artış membran dinlenme potansiyelini stabilize etmekte, voltaj kapılı Ca^{2+} kanalları yoluyla aşırı Ca^{2+} yüklenmesini önlemekte ve hücre içi enerji depolarının korunmasını sağlamaktadır (Şekil 4) (85,86).



Şekil 4. Kardiyomiyositlerdeki K_{ATP} kanallarının koruyucu etki mekanizması *

PLC=Fosfolipaz C, PKC=Protein kinaz C, DAG=Diğer gliserol, IP_3 =İnositol trifosfat
ATP=Adenozin trifosfat, ADP=Adenozin difosfat.

*85' nolu literatürden Türkçeleştirilerek adapte edilmiştir.

Kardiyomiyositlerde $K_{IR6.2}$ -içeren K_{ATP} kanalları baskındır. $K_{IR6.2}$ alt birimi olmayan farelerde yapılan bir çalışmada, akut miyokardiyal iskemide EKG’de tipik bulgu olan S-T segment elevasyonunun anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgu ile S-T elevasyonunda K_{ATP} kanallarının açılmasının önemi olduğu vurgulanmıştır (93).

Kısa iskemi atakları miyokardın daha sonraki şiddetli iskemik hasarlara karşı hazırlanarak korunmasına neden olur ve bu fenomen iskemik ön-koşullanma olarak adlandırılmaktadır. K_{ATP} kanallarının iskemik ön-koşullanmada rol oynadığı bildirilmiştir (86). Gross ve arkadaşları, iskemik ön-koşullanmada K_{ATP} kanallarının koruyucu etkilerinin olduğunu, K_{ATP} kanal açıcılarının iskemik ön-koşullanmayı taklit ettiğini ve K_{ATP} kanal blokörlerinin iskemi sırasındaki bu koruyucu etkileri ortadan kaldırdığını öne sürmüşlerdir. $K_{IR6.2}$ eksik olan farelerde iskemik ön-koşullanma gerçekleşmemiştir (93-95).

Kardiyak aritmi

Metabolik bozukluklarda K_{ATP} kanallarının açılması kardiyoprotektif olmakla birlikte K_{ATP} kanal aktivasyonu erken repolarizasyonu indükleyerek QT intervalini ve refraktör periyodu kısaltmaktadır ve bu nedenle kalp re-entry aritmilerine yatkın hale gelmektedir. Erken repolarizasyon değişiklikleri özellikle sağlıklı erkeklerde ve atletlerde yaygın olarak gözlenmektedir. Mevcut veriler erken repolarizasyon paterninin (J dalga sendromları) ventriküler fibrilasyon riskinde artışla ilişkili olduğunu desteklemektedir. Haissaguerre ve arkadaşları idiyopatik ventriküler fibrilasyonu ve belirgin erken repolarizasyonu olan bir hastada nadir bir KCNJ8 ($K_{IR6.1}$) varyantı tespit etmişlerdir. KCNJ8 mutasyonunun atriyal fibrilasyonla da ilişkili olduğu bildirilmektedir. K_{ATP} kanallarının aritmideki rolü karmaşık olup substrata bağlıdır. Örneğin K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandil ile yapılan klinik çalışmalarda artmış aritmi riski tespit edilmemiştir (16,85,87).

Kalp yetmezliği ve hipertrofi

Konjestif kalp yetmezliği/infarktüsü aksiyon potansiyeli süresinde ve K_{ATP} kanal açıcı sensitivitesinde artışa (hem atriyum hem ventriküllerde) neden olmaktadır. Kompanse edilmiş hipertrofiden kalp yetmezliğine ilerleme sürecinde K_{ATP} kanalları ile etkileşen birçok molekül/enzim gösterilmiştir (96). Isidoro ve arkadaşlarının yetmezlik durumundaki sıçan miyokardiyumunda yaptıkları çalışmada, anjiyotensin II ve TNF- α ekspresyonu, $K_{IR6.1}$ ile pozitif korele, $K_{IR6.2}$ ile negatif korele olarak saptanmıştır (97).

K_{ATP} kanal alt birimlerinde kardiyomiyopati, hipertrofi ve kalp yetmezliğine duyarlılığı artıran çeşitli mutasyonlar bildirilmiştir. Kalp yetmezliği hastalarının %18'inde K_{IR6.2} alt biriminde E23K polimorfizmi tespit edilmiştir. Kardiyak hipertrofi ve kardiyomegali ile karakterize nadir bir sendrom olan Cantu sendromunda SUR2A alt biriminde yanlış anlamlı mutasyon tanımlanmıştır (85).

Vasküler reaktivite ve hipertansiyon

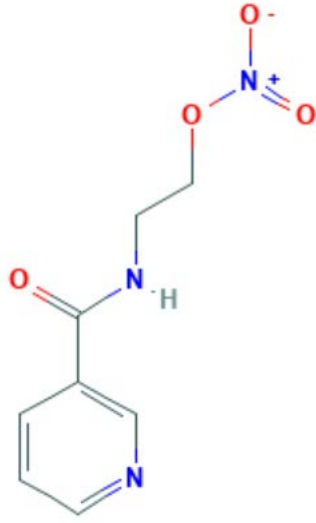
Vasküler düz kas hücreleri, membran potansiyelini ve voltaj bağımlı L-tipi Ca⁺² kanalları yoluyla Ca⁺² girişini kontrol ederek vasküler tonusu düzenlemektedir. K_{ATP} kanal aktivitesi, protein kinaz C (inhibitör)-protein kinaz A (aktivasyon) sinyal yolları ve metabolik stres (hipoksi, iskemi vb.) ile modüle edilebilmektedir. Vasküler düz kas hücrelerindeki K_{ATP} akımlarının vazoaaktif ajanlar tarafından düzenlenmesi, K_{ATP} kanalının kan basıncı regülasyonunda önemli olabileceğine işaret etmektedir (85).

Literatürde vasküler tonusun düzenlenmesinde K_{ATP} kanallarının rolüne ilişkin veriler, hipertansif hayvan modeli çalışmalarından gelmektedir. Hipertansif fenotipteki K_{ATP} kanalları, bozulmuş ve azalmış halde olmaları sebebiyle değişken vasküler reaktivite göstermektedir. K_{ATP} kanal açıcılarının hipertansif hayvanlardan alınan vasküler düz kas hücrelerindeki membran potansiyeli üzerinde normotansif hayvanlara göre minimal bir etkiye sahip oldukları bildirilmiştir (98,99). Ayrıca K_{IR6.1} ve SUR alt birimine sahip olmayan farelerde koroner damarlarda hiperkontraktilite tespit edilmiş, bu durumun koroner arter spazmına bağlı erken ani ölüm riskini artırdığı saptanmıştır (85).

VII. E. Nikorandil

Nikorandilin Kimyasal Yapısı

Nikorandil, kimyasal yapısı organik nitrat ve nikotinamid kombinasyonundan [N-(2-hidroksietil)-nikotinamid nitrat] oluşan bir moleküldür (Şekil 5). Kimyasal formülü C₈H₉N₃O₄ 'tür (22,24).



Şekil 5. Nikorandilin kimyasal yapısı (43).

Nikorandilin Farmakolojik Özellikleri

Farmakokinetik özellikleri

Emilim: Nikorandil gastrointestinal sistemden hızlı bir şekilde tamamen emilir. Tepe plazma konsantrasyonuna 30-60 dk'da, kararlı durum konsantrasyonuna ise 4-5 günlük standart tedavi sonrasında ulaşılır. Oral yolla alınan nikorandilin sistemik biyoyararlanımı %75-80'dir. Besinlerin sistemik biyoyararlanım üzerinde etkisi yoktur. Nikorandil 5-40 mg dozlarında lineer farmakokinetik özellik göstermektedir (100).

Dağılım: Nikorandil, albümin ve diğer plazma proteinlerine zayıf olarak bağlanır ve ilacın çoğu (>%75) vücutta serbest formda bulunur. Oral yolla tek doz 20 mg ya da i.v yolla 5 mg uygulanan nikorandilin V_d 'si 1-1.4 L/kg'dır (101,102).

Metabolizma: Hayvan ve insan metabolizma çalışmaları nikorandilin denitrasyon ve nikotinamid metabolizmasına eklenme olmak üzere başlıca iki biyotransformasyon yoluyla metabolize olduğuna işaret etmektedir. Yan zincirin degradasyonu ile nikotinamid oluşur ve karaciğerde denitrasyon ile N-(2-hidroksietil)-nikotinamid meydana gelir. N-(2-hidroksietil)-nikotinamid farmakolojik olarak inaktif bir alkol metabolitidir. Bu ürünlerin ileri degradasyonu ile de toksik olmayan ve suda çözünen B vitamini kompleksi maddeler oluşup endojen hücresel Nikotinamid adenin dinükleotit (NAD)/Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) havuzuna dahil edilir (101-103).

Nikorandil karaciğerde ilk geçiş eliminasyonuna uğramamaktadır (oral biyoyararlanımının $>75-80$ olması da bir göstergedir). Farmakokinetik özellikleri yaş, kronik karaciğer/böbrek hastalıklarından ve karaciğer mikrozomal enzimlerinden etkilenmez. Simetidin (mikrozomal enzim inhibitörü) veya rifampinle (mikrozomal enzim indükleyici) birlikte uygulandığında nikorandilin farmakokinetik özelliklerinin değişmediği bildirilmiştir (100,103). Nikorandilin terapötik dozu günde iki kez 10-20 mg, maksimum dozu ise günde iki kez 30 mg'dır. Nitratların aksine nikorandile tolerans eğilimi beklenmemektedir (100).

Atılım: Nikorandil hızlıca plazmadan elimine edilir ve $t_{1/2}$ 'si yaklaşık 52 dk'dır. Plazma konsantrasyonu 8. saatte C_{max} 'ın %4'üne düşmekle birlikte çok düşük konsantrasyonlarda 24. saate kadar plazmada bulunabilmektedir. Bu duruma ilacın damar endotel duvarından salınmasını içeren bir mekanizmanın sebep olabileceği bildirilmiştir (100,101).

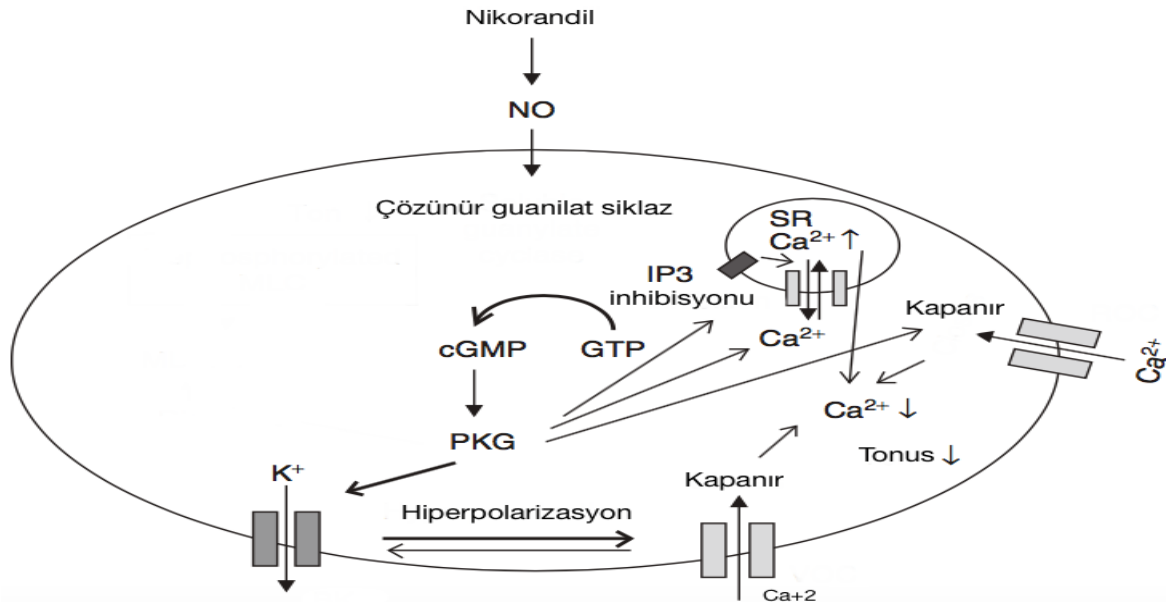
Nikorandilin <20 'si idrarla atılmaktadır. Önemli ölçüde karaciğerde metabolize olduğu için değişmeden atılan renal klerens miktarı düşüktür (orijinal dozun %1'inden az). Total vücut klerensi yaklaşık 52 ± 18 L/saattir (yaklaşık 12 mL/dk/kg) (100-102).

Nikorandilin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri ve kardiyoprotektif etki mekanizması

Nikorandil; anjina ve akut kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan, nitrik oksit (NO) donörü (nitrat-benzeri) etkiye sahip selektif bir mito- K_{ATP} kanal açıcıdır (19). Antianjinal etkilerine ek olarak K_{ATP} kanal açıcı fonksiyonuyla kardiyak iskemi/reperfüzyon sırasında membran hiperpolarizasyonu ve aksiyon potansiyelini kısaltıcı etkileriyle kardiyoprotektif etki gösteren, hem arteriyel hem de venöz damar yataklarını etkileyen dengeli vazodilatör bir ajandır (100,104).

Nikorandilin antianjinal etki mekanizmasında NO donörü ve K_{ATP} kanal açıcı etkileri rol oynamaktadır. Nikorandilin nitrat kökündeki NO, nitratlarda görülen mekanizma ile benzer şekilde vasküler düz kas hücrelerinde guanilil siklazı aktive edip hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP)'ı artırarak periferik ve koroner vazodilatasyona yol açar (Şekil 6). *In-vitro* çalışmalarda vasküler düz kas, kardiyak miyosit ve koroner düz kasta cGMP'yi hem NO-bağımlı hem de NO-bağımsız yol ile artırdığı gösterilmiştir. Aynı cGMP seviyesinde nikorandilin nitratlardan daha fazla vazodilatasyon meydana getirmesi ve nitratlarda sık görülen tolerans probleminin nikorandilde görülmemesi K_{ATP} kanal aktivasyonu ile açıklanmaktadır. Nikorandil, K_{ATP} kanalları üzerindeki etkisiyle K^+ çıkışına, vasküler düz kas

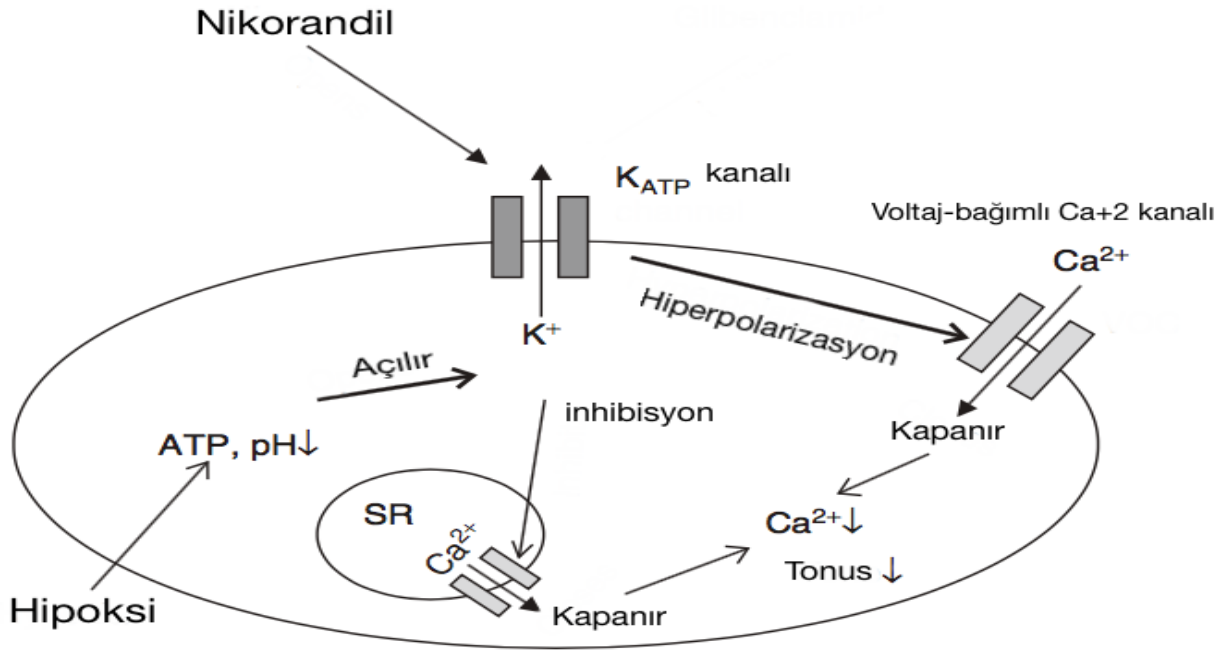
hücre hiperpolarizasyonuna ve voltaj-duyarlı L tipi Ca^{+2} kanallarının kapanmasına neden olarak koroner mikrodamarlar ve periferik arteriyollerde vazodilatasyona neden olmaktadır. Arteriyel vazodilatasyonun mekanizmasında membran hiperpolarizasyonu sonucu voltaj-duyarlı Ca^{+2} kanallarının kapanması ile hücre içine Ca^{+2} girişinin azalması; K^{+} kanal aktivasyonu ile sarkoplazmik membrandan Ca^{+2} salınımının inhibe olması; sonuçta intrasellüler serbest Ca^{+2} konsantrasyonunun azalması rol oynamaktadır (Şekil 7). Venöz vazodilatasyon ise yine K^{+} çıkışı, membran hiperpolarizasyonu, Ca^{+2} kanallarının inhibisyonu mekanizmalarıyla cGMP aracılı yolak sonucu meydana gelmektedir. İzole kardiyak miyositlerde yapılmış bir çalışmada nikorandilin $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ değişimini [$(\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ exchanger (NCX1)] stimüle ederek de Ca^{+2} çıkışını hızlandırdığı belirtilmiştir. NCX1 kardiyak miyositlerde hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu düzenleyen ve Ca^{+2} 'u hücrelerden uzaklaştıran (3 Na^{+} 'a karşılık 1 Ca^{+2}) antiporter membran proteinidir. Nikorandilin kardiyoprotektif diğer hemodinamik etkileri arasında; koroner kan akımında artma, kalbin ön yükünde (preload), ard yükünde (afterload) ve arteriyel vasküler dirençte azalma gibi etkiler mevcuttur. Koroner aterosklerozlu hastalarda nikorandilin koroner arterleri %10-20 dilate ettiği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada oral veya sublingual yol ile uygulanan 40 mg nikorandilin 15 dk sonra sol ventrikül diyastol sonu basıncını anlamlı olarak düşürdüğü, total periferik direnci %19 azalttığı bildirilmiştir (21-24,100,105).



Şekil 6. Nitrik oksit (NO) arteriyel düz kastaki fonksiyonu*

cGMP= Siklik guanozin monofosfat, GTP= Guanozin trifosfat, PKG=cGMP-bağımlı protein kinaz, IP3=İnositol trifosfat, SR=Sarkoplazmik retikulum.

*23' nolu literatürden Türkçeleştirilerek adapte edilmiştir.



Şekil 7. K_{ATP} kanalının arteriyel düz kastaki fonksiyonu*
 ATP= Adenozin trifosfat, SR= Sarkoplazmik retikulum.
 *23' nolu literatürden Türkçeleştirilerek adapte edilmiştir.

Nikorandilin diğer bir özelliği de antioksidan etkiye sahip olmasıdır. Nikorandil antioksidan etkisini; süperoksid dismutaz 2 (SOD2) aktivitesini artırarak ve ksantin oksidaz aktivitesini azaltarak gerçekleştirmektedir (25). Sıçan kardiyak miyositlerinde yapılmış bir çalışmada nikorandilin hipoksi ile indüklenen apoptozu mito-K_{ATP} aktivasyonu ile proapoptotik (Bax) ve anti-apoptotik (Bcl-2) proteinleri düzenleyerek önlediği gösterilmiştir. *İn-vitro* çalışmalarda serbest radikal önleyici ve nötrofil düzenleyici etkilerinin olduğu da rapor edilmiştir. Bunlara ek olarak nikorandilin kalbi iskemik hasara karşı koruduğu bildirilmektedir. İskemi-reperfüzyon modellerinde nikorandilin oksidatif stres ile indüklenen apoptozu önlediği, infarktüsün boyutunu azalttığı, iskemi sonrası iskemik ön-koşullanmayı taklit ederek kalpteki kasılma disfonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (21,26,100,106).

Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, nikorandilin K_{ATP} kanallarını açması nedeniyle QT intervalini, monofazik aksiyon potansiyeli sürelerini kısalttığı, repolarizasyon anormalliklerini düzelttiği ve ventriküler taşikardileri (TdP dahil) önlediği bildirilmektedir.

Kobay kalbinde dizopiramid ile indüklenmiş UQTS ve fare kalbinde hipokalemi ile indüklenmiş UQTS modellerinde nikorandilin antiaritmik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (19,20,107). Hem *in-vitro* hem de *in-vivo* çalışmalarda nikorandilin spontan ve tetiklenmiş aktiviteyi ortadan kaldırmasının antiaritmik etkisine katkıda bulunduğu belirtilmiştir. *In-vivo* köpek kalbinde dijital ile indüklenmiş aritmi modelinde ise nikorandil akut ve direkt antiaritmik etki göstermemiştir (24). İzole kalp çalışmalarında nikorandilin bu etkilerini hERG akımını etkilemeden gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (108).



VIII. GEREÇ VE YÖNTEM

VIII. A. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Randomize, kontrollü deneysel çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (Protokol No: 29/2018, 22.05.2018 tarihli karar) alındıktan sonra başlandı. Tüm deney protokolleri, Helsinki Bildirgesi, Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik ve laboratuvar hayvanı kullanımı ile ilgili uluslararası mevzuata uygun şekilde, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan 44 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan (ağırlıkları 250-300 g arasında değişen), Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanların bakımları ise DEÜTF Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı barınma odasında yapıldı. Sıçanlar çalışma süresince konvansiyonel kafeslerde, oda sıcaklığında, 12'şer saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde, standart pelet sıçan yemi ile beslendi ve suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Sıçanlar, deney öncesi 12 saat aç bırakıldı ve sadece su içmelerine izin verildi.

VIII. B. Deney Hazırlığı ve Cerrahi İşlemler

Deney günü sıçanlara ürethan / α -kloraloz (500 mg/kg / 50 mg/kg) ile intraperitoneal (i.p) olarak anestezi verildi. Hava yolunun kontrolü için trakeostomi ile trakea kanüle edildi. Trakea kanülasyonu sonrasında sıçanların stabilizasyonu için 15 dakika (dk) beklendi.

VIII. C. Kardiyak Parametrelerin Kaydı

Anestezi altındaki sıçanlara D2 derivasyonda kalp atım hızı (KAH) ve elektrokardiyografi (EKG) parametrelerinin [QRS süresi, QT intervalı ve düzeltilmiş QT intervalı (QT_c)] takibi amacıyla EKG elektrodları (iğne elektrod) (AD Instruments MLA 1204 Needle Elektrod, New South Wales, Australia) subkutanöz olarak yerleştirildi (Resim 1).

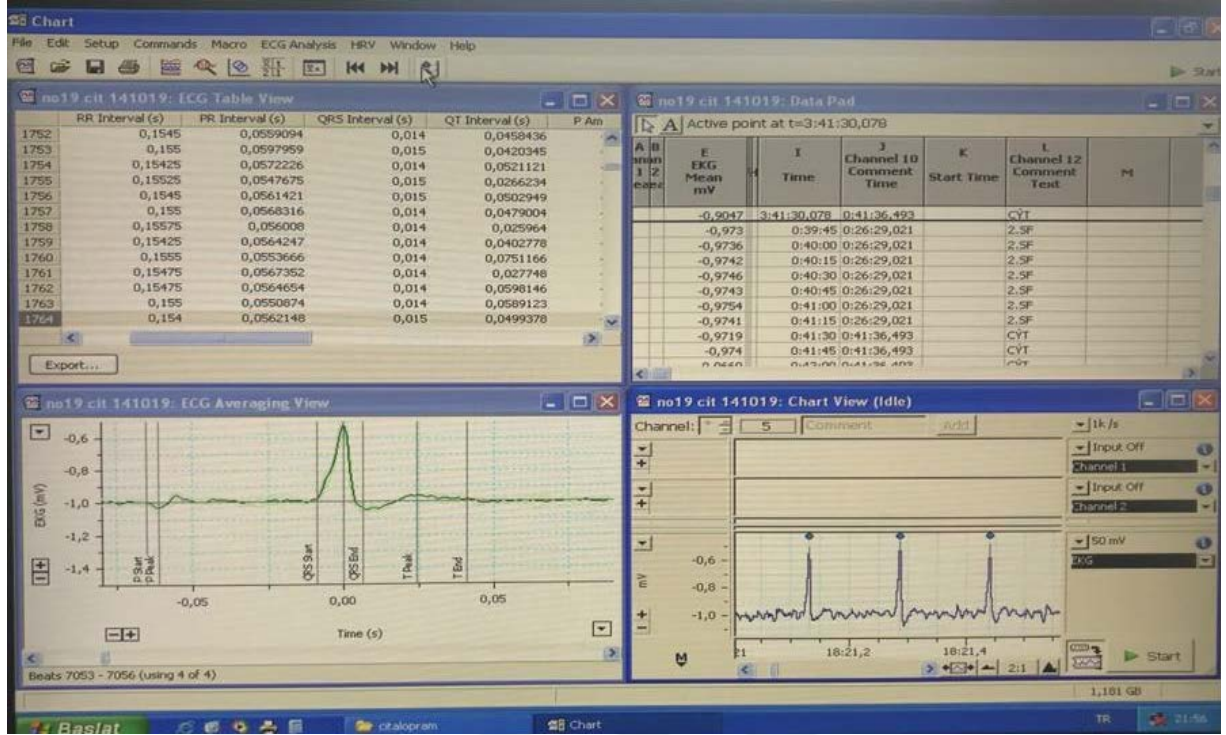


Resim 1. Anestezi altındaki sıçanda EKG elektrodlarının yerleştirilmesi

EKG parametrelerinin kaydı Data Acquisition Sistem (Powerlab/8SP, MP30B-CE, 206B1564; USA) ile her 15 saniyede bir gerçekleştirildi (Resim 2). Veri analizi için Chart 5.0 yazılımı (AD Instruments, New South Wales, Australia) kullanıldı (Resim 3). Deney protokollerinde belirtilen zamanlar için KAH, QRS süresi, QT intervalı, Bazett'in formülüne göre düzeltilmiş QT intervalı ($QT_c = QT/(RR)^{1/2}$) değerleri kaydedildi. KAH atım/dk, EKG parametreleri (QRS süresi, QT ve QT_c intervalı) milisaniye (ms) cinsinden ifade edildi.



Resim 2. Veri kayıt sistemi (Powerlab/8SP Data Acquisition Sistem)



Resim 3. Chart 5.0 yazılımında (AD Instruments) veri kaydı

VIII. D. Deneyde Kullanılan İlaçlar ve Hazırlanışı

- Üretan, α -kloraloiz: Sigma-Aldrich, MO, USA.
- Sitalopram: Selektif serotonin re-uptake inhibitörü (SSRI) (Acros Organics-Thermo Fisher Scientific, MO, USA).
- Nikorandil: Selektif mito- K_{ATP} kanal açıcı (Sigma-Aldrich, MO, USA).
- 5-hydroxydecanoate (5-HD): Selektif mitokondriyal K_{ATP} (mito- K_{ATP}) kanal blokörü (Sigma-Aldrich, MO, USA).

Deney protokolüne başlamadan önce, deneyde kullanılacak ilaçların stok solüsyonları aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı (69,106,109).

- Üretan: 300 mg/mL olacak şekilde distile suda,
- α -kloraloiz: 40 mg/mL olacak şekilde distile suda,
- Sitalopram: 40 mg/mL olacak şekilde distile suda,
- 5-HD: 10 mg/mL olacak şekilde distile suda,
- Nikorandil: 3 mg/mL olacak şekilde serum fizyolojik (SF)'te hazırlandı.

VIII. E. Deney Protokolleri

Ön Çalışma

Ön çalışmamız; sitalopramın QT intervalini uzatan dozunun tespit edilmesi, K_{ATP} kanal açıcı ve blokörlerinin kardiyovasküler parametreler üzerine etkisinin test edilmesi ve sıçanların başlangıç biyokimyasal analizleri ve histolojik değerlendirmelerinin yapılması amacı ile planlanmıştır.

Sitalopramın QT intervalini uzatan dozunun test edilmesi (n=9): Sprague Dawley cinsi sıçanlarda i.p yol ile uygulanan sitalopramın QT intervalinde uzamaya sebep olan dozuyla ilgili literatür bilgisi mevcut olmadığı için öncelikle bu dozun tespit edilmesi planlandı. Beaune ve arkadaşlarının Sprague Dawley cinsi sıçanlarda yaptıkları çalışmada i.p yol ile uygulanan sitaloprama ait medyan letal doz (MLD) 102 mg/kg olarak bulunmuş; bu değerin %80'i dozunda uygulanan sitalopram dozu sonrasında %23 ölüm, %60'ı dozunda uygulanan sitalopram dozu sonrasında ise %17 ölüm bildirilmiştir (13). Bu nedenle çalışmamızda sıçanlara MLD' den düşük (MLD'nin %50'si, MLD'nin %60'ı ve MLD'nin %80'i, n=3), MLD'ye eşit (n=1) ve MLD'den yüksek (MLD'nin %120 si, n=1) dozda sitalopram i.p yolla uygulandı ve 60 dk boyunca KAH, QRS süresi, QT ve QT_c intervali değerlerinde oluşan değişiklikler kaydedildi. Sitalopram uygulanmasını takiben QT intervalinde uzama tespit edilen ve ölüm görülmeyen dozda n sayısının 5'e tamamlanması planlandı.

K_{ATP} kanal açıcı ve blokörlerinin kardiyovasküler parametreler üzerine etkisinin test edilmesi (n=6): Literatürde Sprague Dawley cinsi sıçanlara nikorandil (selektif mito- K_{ATP} kanal açıcı) 3 mg/kg i.p yolla, 5-hydroxydecanoate (5-HD, selektif mito- K_{ATP} kanal blokörü) 10 mg/kg i.p yolla uygulanmış ve hemodinamik parametreleri değiştirmediği rapor edilmiştir (110,111). Çalışmamızda 3 adet sıçana nikorandil (3 mg/kg i.p) ve 3 adet sıçana 5-HD (10 mg/kg i.p) uygulanarak 60 dk boyunca kardiyovasküler parametreler (KAH, QRS süresi, QT ve QT_c intervali) üzerindeki etkileri kaydedildi (n=6).

Sıçanların başlangıç biyokimyasal analizleri ve histolojik değerlendirmeleri (n=6): Anestezi altındaki sıçanlardan caudal vena cava'dan kan örnekleri EDTA'lı tüpe alındı. EDTA'lı tüpe alınan kanlar, 3000 rpm hızında 10 dk süresince +4 °C'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar -80 °C'de saklandı. Kan alınmasını takiben sıçanların toraksları açılarak biyokimyasal ve histolojik incelemeler için kalpleri çıkarıldı.

Sıçanların plazma ve doku örneklerinden ölçülen oksidan/antioksidan parametreler [(malondialdehit (MDA)/redükte glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GpX), süperoksit dismutaz (SOD)] ve kalp dokusundan yapılan histomorfolojik ve immunohistokimyasal (Aktive KASPAZ-3 ve TUNEL yöntemi) değerlendirmeler deney gruplarındaki sıçanların verileri ile karşılaştırılmak amacı ile kontrol değerleri olarak kabul edildi.

Deney Protokolü

Sıçanlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı (n=23):

1. SF+Sitalopram grubu (n=6): Sıçanlara i.p yolla SF uygulamasını takiben 10 dk sonra i.p SF uygulandı, takiben 15 dk sonra i.p yolla ön çalışmada test edilen sitalopram dozu (102 mg/kg) uygulandı.
2. Nikorandil+Sitalopram grubu (n=5): Sıçanlara i.p yolla SF uygulamasını takiben 10 dk sonra 3 mg/kg i.p nikorandil (selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı) uygulandı, takiben 15 dk sonra i.p yolla ön çalışmada test edilen sitalopram dozu (102 mg/kg) uygulandı (24,110).
3. 5-HD+Sitalopram grubu (n=6): Sıçanlara 10 mg/kg i.p yolla 5-HD (selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü) uygulamasını takiben 10 dk sonra i.p yolla SF uygulandı, ardından 15 dk sonra i.p yolla ön çalışmada test edilen sitalopram dozu (102 mg/kg) uygulandı (24,111).
4. 5-HD+Nikorandil+Sitalopram grubu (n=6): Sıçanlara 10 mg/kg i.p yolla 5-HD uygulamasını takiben 10 dk sonra 3 mg/kg i.p nikorandil uygulandı, takiben 15 dk sonra i.p yolla ön çalışmada test edilen sitalopram dozu (102 mg/kg) uygulandı.

Tüm deney gruplarında stabilizasyon sonunda (başlangıç), 1. ve 2. inkübasyon periyodu sonunda ve inkübasyon dönemleri bitiminde uygulanan sitalopram sonrası her 10 dk'da bir olacak şekilde 120 dk'lık izlem boyunca KAH, QRS süresi, QT ve QT_c intervali değerleri kaydedildi (Şekil 8).

Deney Grupları	Anestezi ve stabilizasyon (15 dk)	1.İnkübasyon periyodu (10 dk)	2.İnkübasyon periyodu (15 dk)	İlaç uygulaması (120 dk izlem)
Serum Fizyolojik +Sitalopram (n=6)	Stabilizasyon	Serum fizyolojik	Serum fizyolojik	Sitalopram
Nikorandil+ Sitalopram (n=5)	Stabilizasyon	Serum fizyolojik	Nikorandil	Sitalopram
5-HD+ Sitalopram (n=6)	Stabilizasyon	5-HD	Serum fizyolojik	Sitalopram
5-HD+Nikorandil +Sitalopram (n=6)	Stabilizasyon	5-HD	Nikorandil	Sitalopram

Şekil 8. Deney protokolü

Deney sonunda anestezi altındaki sıçanlardan caudal vena cava'dan kan örnekleri EDTA'lı tüpe alındı (Resim 4). EDTA'lı tüpe alınan kanlar, 3000 rpm hızında 10 dk süresince +4 °C'de santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrılan plazmalar -80 °C'de saklandı.



Resim 4. Sıçan vena cava caudalis'inden kan alınması

Kan alınmasını takiben sıçanların toraksları açılarak biyokimyasal ve histolojik incelemeler için kalpleri çıkarıldı. Kalp tartıldıktan sonra, bazisten apekse, septum ve sol ventrikül bir yarıda kalacak biçimde kesildi. Alınan kalp dokusunun sağ ½ si biyokimyasal, sol ½ si histomorfolojik değerlendirme için ayrıldı. Histomorfolojik incelemeler için, %10 tamponlanmış formalin içinde fikse edildi. Diğer bir kısmı da antioksidan enzim ölçümleri için, soğuk (+4 °C) Fosfat Buffered Saline (PBS) ile yıkandı ve analiz edilinceye kadar ayrı kaplarda -80 °C’de saklandı.

VIII. F. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için tam kan örneği ve kalp dokusu materyali kullanıldı. Kan ve kalp doku örneklerinden MDA (ImmuChrom HPLC kit, Germany), GSH (ImmuChrom HPLC kit, Germany) düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) ile (Schimadzu Prominence HPLC cihazı, USA); GPX (Biovision Activity Colorimetric Assay Kit, USA), SOD (Biovision Activity Assay Kit, USA) enzim aktiviteleri ise kolorimetrik spektrofotometrik yöntem (BioTek ELX 800 plak okuyucu, USA) ile ölçüldü. Doku parametre ölçümleri mg protein başına olacak şekilde ifade edildi. Doku örneklerinin protein düzeyleri fotometrik olarak belirlendi (Pierce BCA Protein Assay Kit Thermo Scientific, USA).

VIII. G. Histolojik İnceleme

Histokimyasal İnceleme

Kalp dokuları histokimyasal incelemeler için %10’luk formaldehitte 24–48 saat bekletilerek fikse edildi. Daha sonra fiksatifin uzaklaştırılması için bir gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla sırasıyla %70, %80 ve %96’lık etil alkol serilerinde 20’şer dk; ardından dört farklı aseton serisinde 20’şer dk tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla 30’ar dk iki farklı ksilene tabi tutuldu. Birer saatlik iki kez yumuşak parafin ile immersiyonu sağlandı ve sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5 µ kalınlığında kesitler alındı.

Hematoksilen eozin boyama prosedürü

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için bir gece 60°C’lik etüvde tutuldu. Ardından ilki etüvde diğer ikisi oda sıcaklığında 20’şer dk üç farklı ksilole tabi tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için 5 farklı azalan alkol serisinden (absolü-%70) geçirilip, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dk hematoksilen (05- 06002L, Bio-Optica, Milano, İtalya) ile

nukleusların boyanması sağlandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dk akarsuda yıkanan kesitler, iki dk eozin (05-10003L, Bio-Optica, Milano, İtalya) boyası ile boyandı ve böylece hücre sitoplazmasının boyanması sağlandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve iki seri absolu alkolden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dk üç değişim ksilolde tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Masson trikrom boyama prosedürü

Deparafinizasyon için bir gece 60°C'lik etüvde bekletilen kesitler biri etüvde olmak üzere üç farklı ksilolde tutuldu. Daha sonra azalan alkol serilerinden geçirildi. Distile suda çalkalandıktan sonra Masson Trikrom boyama seti (5022, GBL, İstanbul, Türkiye) içerisinde dokular üzerine beş damla Weigert demirli hematoksilin A solüsyonu ile beş damla Weigert demirli hematoksilin B solüsyonu damlatılarak nukleusların boyanabilmesi için 10 dk bekletildi. Yıkama işlemi yapılmadan preparatlar beş dk kurutulduktan sonra Pikrik asit alkolik çözeltisi C solüsyonundan 10 damla damlatılarak dört dk bekletildi ve eritrositlerin boyanması sağlandı. Distile su ile hemen (3-4 saniye) yıkandıktan sonra kesitlere uygulanan 10 damla Gelincik kızılı fuksin çözeltisi D solüsyonu dört dk bekletilerek hücre sitoplazmalarının boyanması sağlandı. Sonra preparatlar distile su ile yıkandıktan sonra Fosfomolibdik asit çözeltisi E solüsyonundan 10 damla damlatılarak 10 dk bekletildi. Yıkama yapılmadan preparatlar beş dk kurutuldu. Masson anilin mavisi çözeltisi F solüsyonundan 10 damla Trisu ile yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilol ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

Kalp dokusunun histomorfolojik değerlendirilmesi

Boyamaları yapılan kalp doku kesitleri iki kör histolog tarafından değerlendirildi. Işık mikroskobu ile her kalp kesiti için en az 20 alan değerlendirildi ve yüksek çözünürlüklü fotoğraflar alındı (DP-71, Olympus, Japan). Hematoksilin eozin ve masson trikrom boyamalarında kalp dokusundaki yapısal değişiklikler, miyofibril düzenlemesindeki bozukluklar, vakuolizasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, vazodilatasyon, eritrosit ekstravazasyonu ve interstisyel alandaki yapısal değişiklikler değerlendirildi. Değerlendirmeler semikantitatif skor ile skorlandı. Bu skorlamaya göre 0:Hiç hasar yok, 1:Az derecede hasar, 2: Orta derecede hasar, 3: Şiddetli hasar şeklinde skorlama yapıldı (112).

Kardiyak Hücre Apoptozunun Değerlendirilmesi

Aktive KASPAZ-3 immunohistokimyası: Alınan kesitler öncelikle 60 °C'lik etüvde bir gece bekletildi sonrasında şeffaflaştırma amacıyla ilki etüvde diğer ikisi oda ısısında olmak üzere 30'ar dk üç değişim ksilole tabi tutuldu. Azalan alkol serilerinden geçirilip distile suda çalkalandı. Daha sonra dokular %10'luk Sitrat tamponunda beş dk mikrodalgada kaynatıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Soğuyan dokuların etrafı Pappen (Z672548-1EA Sigma Tokyo, Japonya) ile çizildi ve üzerlerine dokuların kurumaması amacı ile PBS koyuldu. Ardından üç kez PBS ile yıkanan kesitler, 10 dk oda ısısında %3'lük H₂O₂ ile bekletilerek dokuda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve 20 dk bloklama (A) solüsyonu (İnvitrogen 85-9043) ile bekletildi. Yıkama yapılmadan primer antikor sıçan spesifik Aktive KASPAZ-3 (ab3623 Sigma/Aldrich) ile + 4 °C' de bir gece bekletildi. Ertesi gün PBS ile yapılan yıkamadan sonra anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz sekonder antikor (B) solüsyonu (İnvitrogen, 85-9043) ile 30 dk bekletildi. Tekrar yıkama yapıldıktan sonra C solüsyonunda (İnvitrogen 85-9043) 20 dk bekletildi. Yine PBS ile yıkanan kesitler oluşturulan immünohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB (Roche, Germany) ile muamele edildi. Distile su ile yıkanan kesitlere Mayer's hematoksileni ile artalan boyaması sağlandıktan sonra akarsu ile yıkandı. Artan alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı (113).

TUNEL yöntemi: Hücredeki DNA fragmantasyonlarını gösteren terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) yöntemi için ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptotic Detection Kit (Milipore S7101) kullanıldı. Deparafinize edilen kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek suya getirildi ve etrafları dakopen ile sınırlanarak PBS ile yıkandı. Ardından 20 µg/mL proteinaz K ile muamele edildi ve %3'lük H₂O₂ ile bekletilerek dokuda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Yıkamanın ardından 10 saniye equilibration buffer ile muamele edilip yıkama yapmadan TdT enzimi eklendi ve 37 °C' de bir saat üzeri kapatılarak inkübe edildi. Stop/wash buffer ile yıkadıktan sonra anti-digoxigenin conjugate ile 30 dk boyunca oda ısısında bekletildi.

DAB kromojeni ile boyamanın ardından Mayer's hematoksileni ile artalan boyaması yapıldı ve kapamanın ardından mikroskopta incelendi.

Aktive KASPAZ-3 ve TUNEL yönteminin skorlaması: Her bir kesitte 40x büyütmede toplam 500 hücre tarandı ve pozitif hücre sayıları % olarak hesaplandı.

VIII. H. İstatistiksel Analiz

Kardiyovasküler parametrelerin grup içi karşılaştırmasında tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) takiben Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testleri, gruplararası farkın değerlendirilmesinde ise varyans analizi (ANOVA) takiben Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı (Graphad Instat V2.05a 1994).

Biyokimyasal analizde gruplararası karşılaştırmalarda varyans analizi (ANOVA) ve takiben Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testleri uygulandı (Graphad Instat V2.05a 1994).

Histolojik verilerin istatistiksel analizi SPSS 20.0 (SPSS INC., Chicago, IL, USA) programında yapıldı. Gruplararası karşılaştırmada Kruskal Wallis testi, ikili gruplararasıdaki farkın değerlendirilmesinde ise Mann Whitney U post hoc testi kullanıldı.

Tüm veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Çalışmada $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IX. BULGULAR

IX. A. Ön Çalışma

Ön çalışma gruplarındaki sıçanların (sitalopram, nikorandil, 5-HD) başlangıç QT intervali, QT_c intervali, QRS süresi, KAH ve vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0.05) (Tablo 5).

Tablo 5. Ön çalışma gruplarındaki sıçanların başlangıç kardiyovasküler parametreleri ve vücut ağırlıkları

Ön Çalışma Grupları	QRS (msn)	QT (msn)	QT_c (msn)	KAH (atım/dk)	Vücut Ağırlığı (gram)
Sitalopram	15.9±1.8	41.2±0.7	3.1±0.1	352.6±23.8	304.2±6.6
Nikorandil	14.4±0.4	36.2±6.6	2.7±0.6	350.3±13.2	272.2±13.6
5-HD	16.9±0.2	53.4±5.3	4.3±0.4	382.0±6.0	303.1±8.3

5-HD: 5-hydroxydecanoate, KAH: Kalp atım hızı

Sitalopramın QT İntervalini Uzatan Dozunun Bulunması

Sitalopramın MLD değeri olan 102 mg/kg'ın %50'si, %60'ı ve %80'i dozunda sitalopram i.p yolla uygulanmasını takiben QT intervalinde anlamlı uzama tespit edilmedi (n=3, p>0.05).

Yüz iki mg/kg dozunda sitalopram (n=1) uygulanmasını takiben QT intervalinde başlangıç değerine göre 50. ve 60. dk'larda uzama saptandı (sırasıyla %100.0, %134.3, %132.2). MLD'nin %120'si dozunda sitalopram uygulanan sıçan (n=1) ise 20. dk'da öldü. QT intervalinde uzama tespit edilen ve ölüm görülmeyen 102 mg/kg dozunda sitalopram i.p yolla 4 sıçana daha uygulanıp 60 dk boyunca kardiyovasküler parametreler (KAH, QRS süresi, QT ve QT_c intervali) üzerindeki etkisi kaydedildi.

Sitalopramın (102 mg/kg, i.p) kardiyovasküler parametreler üzerine etkisi

Sitalopram (102 mg/kg i.p, n=5) uygulanmasını takiben 50. ve 60. dk'larda QT intervali ve QT_c intervali değerlerinde başlangıça göre (QT intervali için: %100±0.0, %123.8±3.9, %124.3±7.6, sırasıyla p<0.01, p<0.001; QT_c intervali için; %100±0.0, %127.8±5.7, %128.1±10.3 sırasıyla p<0.01, p<0.01) ve 10. dk'ya göre (QT intervali için: %106.3±5.9,

%123.8±3.9, %124.3±7.6, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$; QT_c intervali için %100.8±5.0, %127.8±5.7, %128.1±10.3 sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$) istatistiksel olarak anlamlı uzama tespit edilirken, QRS süresi ve KAH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6. Sitalopramın (102 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QT_c), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney Periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QT _c (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	15.9±1.8	41.2± 0.7	3.1±0.1	352.6±23.8
Sitalopram uygulaması (i.p)				
10.dk	18.2±1.5	43.9±3.0	3.2±0.2	335.0±15.1
20.dk	17.6±1.3	45.4±2.5	3.5±0,2	349.6 ±15.0
30.dk	16.7±3.0	46.1±1.7	3.6±0.2	358.2±14.4
40.dk	16.8±2.2	45.7±2.1	3.5±0.2	358.2±11.2
50.dk	17.5±1.9	50.9±1.6 ^{aa,b}	3.9±0.2 ^{aa,bb}	357.0±14.6
60.dk	17.5±1,9	51.2±3.5 ^{aaa,b}	3.9±0,4 ^{aa,bb}	353.4±15.5

aa, $p<0.01$; aaa, $p<0.001$; Başlangıca göre anlamlılığı gösteriyor.

b, $p<0.05$; bb, $p<0.01$; 10. dakikaya göre anlamlılığı gösteriyor.

Ön çalışma sonuçlarımıza göre sitalopramın QT intervalini uzatan dozu 102 mg/kg (i.p) olarak bulunarak deney gruplarında sitalopram uygulanmasını takiben EKG izleminin 120 dk ya tamamlanması planlandı. Yüz iki mg/kg dozunda sitalopram uygulanan sıçanlarda ölüm görülmedi.

K_{ATP} Kanal Açıcı Nikorandilin Kardiyovasküler Parametreler Üzerine Etkisi

Nikorandil (selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı, 3 mg/kg i.p, n=3) uygulamasının deney süresince QT intervali, QT_c intervali, QRS süresi ve KAH değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptandı ($p>0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Nikorandilin (3 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QTc), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney Periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	14.4±0.4	36.2±6.6	2.7±0.6	350.3±13.2
Nikorandil uygulaması (i.p)				
15.dk	16.6±0.6	37.0±6.9	2.9±0.6	350.7±22.1
25.dk	18.3±3.9	34.9±6.1	2.7±0.5	347.3±25.9
35.dk	14.1±0.9	36.1±6.4	2.8±0.6	326.3±29.3
45.dk	14.6±1.3	37.1±4.2	2.8 ±0.3	338.3±10.3
55.dk	14.1±0.6	37.2±7.0	2.8±0.6	320.0±21.6
65.dk	12.4±0.2	35.6±6.5	2.7±0.5	337.3±21.7

K_{ATP} Kanal Blokörü 5-hydroxydecanoate'ın (5-HD) Kardiyovasküler Parametreler Üzerine Etkisi

5-HD (selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü, 10 mg/kg i.p, n=3) uygulamasının deney süresince QT intervali, QT_c intervali, QRS süresi ve KAH değerlerinde başlangıca göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptandı (p>0.05) (Tablo 8).

Tablo 8. 5-hydroxydecanoate'ın (5-HD) (10 mg/kg, i.p) QT intervali, düzeltilmiş QT intervali (QTc), QRS süresi ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney Periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	16.9±0.2	53.4± 5.3	4.3±0.4	382.0±6.0
5-HD uygulaması (i.p)				
10.dk	16.4±0.9	57.5±2.9	4.6±0.3	374.7±6.9
25.dk	15.6±1.0	54.2±4.3	4.3±0.4	369.3±8.7
35.dk	15.2±0.8	54.7±3.7	4.3±0.3	368.3±2.4
45.dk	16.2±0.7	55.5±3.2	4.4±0.3	373.0±7.9
55.dk	17.8±0.1	57.6±3.6	4.5±0.3	367.0±8.7
65.dk	17.1±1.4	56.5±3.3	4.4±0.2	368.3±8.3

Sıçanların Başlangıç Biyokimyasal Analizleri ve Histolojik Değerlendirmeleri

Sıçanların başlangıç plazma-doku oksidan/antioksidan parametreleri ve kalp dokusu histolojik değerlendirmeleri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Sıçanların başlangıç biyokimyasal ve histolojik parametreleri

Parametreler	Başlangıç değerleri
Biyokimyasal	
Oksidan Parametre	
Plazma MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	1.8 $\pm$ 0.3
Doku MDA	0.4 $\pm$ 0.1
Antioksidan Parametreler	
Plazma GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	12.4 $\pm$ 1.9
Plazma GpX (mU/mL)	76.3 $\pm$ 6.4
Plazma SOD (mU/mL)	14.7 $\pm$ 1.0
Doku GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	4.2 $\pm$ 0.2
Doku GpX (mU/mL)	11.7 $\pm$ 1.4
Doku SOD (mU/mL)	24.2 $\pm$ 2.4
Histolojik	
Histomorfolojik skor	0.1 $\pm$ 0.1
TUNEL (+) hücre sayısı	2.2 $\pm$ 0.3
Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayısı	2.6 $\pm$ 0.2

MDA: Malondialdehit, GSH: Redükte glutasyon, GpX: Glutasyon peroksidaz, SOD: Süperoksit dismutaz

IX. B. Deney Protokolü

Grupların Başlangıç Değerleri

Deney gruplarındaki sıçanların başlangıç QT intervalı, QT_c intervalı, QRS süresi, KAH ve vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0.05) (Tablo 10).

Tablo 10. Deney gruplarındaki sıçanların başlangıç kardiyovasküler parametreleri ve vücut ağırlıkları

Deney Grupları	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)	Vücut Ağırlığı (gram)
SF+Sitalopram	14.9±0.9	47.2±2.7	3.8±0.2	396.2±7.1	265.9±4.6
Nikorandil+Sitalopram	14.2±1.9	47.9±5.2	3.9±0.5	404.2±23.5	249.9±10.2
5-HD+Sitalopram	12.9±0.9	46.7±1.5	3.8±0.2	389.8±26.2	274.6±11.2
5-HD+Nikorandil+Sitalopram	14.6±1.3	47.5±1.1	3.9±0.1	395.2±15.2	275.0±12.5

5-HD: 5-hydroxydecanoate, KAH: Kalp atım hızı

Serum Fizyolojik (SF) Uygulamasını Takiben Sitalopramın Elektrokardiyografik Parametreler ve Kalp Atım hızı (KAH) Üzerine Etkisi

SF+sitalopram grubunda QRS süresinde ve KAH'da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 11). QT intervalinde sitalopram uygulamasını takiben 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda başlangıca göre (%100.0±0.0, %119.9±3.9, 122.2±2.1, 126.4±4.3, 125.3±3.3, 122.5±3.8, 120.7±3.8, 122.5±2.1, 117.5±1.7, 121.1±3.5, sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.001$) ve 1.SF uygulamasına göre (%99.7±4.2, %119.9±3.9, %122.2±2.1, %126.4±4.3, %125.3±3.3, %122.5±3.8, %120.7±3.8, %122.5±2.1, %117.5±1.7, %121.1±3.5, sırasıyla $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.001$); 50., 60., 70., 80., 90., 100., 120. dk'larda 2.SF uygulamasına göre (%105.4±3.8, 122.2±2.1, 126.4±4.3, 125.3±3.3, 122.5±3.8, 120.7±3.8, 122.5±2.1, 121.1±3.5, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı uzama saptandı (Tablo 11).

QT_c intervalinde sitalopram uygulamasını takiben 50., 60., 70., 80., 100. dk'larda başlangıca göre (%100.0±0.0, %116.4±2.5, %119.7±3.9, %118.0±3.5, %114.6±4.0, %114.8±2.6, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$); 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 120. dk'larda 1.SF uygulamasına göre (%98.2±4.1, %114.3±2.4, %116.4±2.5, %119.7±3.9, %118.0±3.5, %114.6±4.0, %113.3±3.2, %114.8±2.6, %113.5±2.6, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$); 60. ve 70. dk'larda 2.SF

uygulamasına göre (%103.0±4.2, %119.7±3.9, %118.0±3.5, sırasıyla p<0.01, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı uzama saptandı (Tablo 11).

Tablo 11. Serum fizyolojik (SF) uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	14.9±0.9	47.2±2.7	3.8±0.2	396.2±7.1
1. İnkübasyon: SF uygulaması (i.p)	15.9±0.8	47.4±4.2	3.8±0.3	376.5±9.2
2. İnkübasyon: SF uygulaması (i.p)	16.4±0.7	50.0±4.0	3.9±0.3	349.8±19.6
Sitalopram uygulaması (i.p)				
10.dk	17.5±1.3	53.5±3.4	4.1±0.3	369±6.5
20.dk	16.9±1.1	54.1±3.2	4.2±0.2	378.2±7.1
30.dk	17.0±1.3	54.0±3.1	4.2±0.2	369.5±15.4
40.dk	18.0±1.2	56.4±2.9 ^{aa,bb}	4.4±0.2 ^b	377.8±10.0
50.dk	17.6±1.3	57.6±2.9 ^{aaa,bbb,c}	4.4±0.3 ^{a,bb}	382.0±15.4
60.dk	17.1±1.1	59.5±3.4 ^{aaa,bbb,ccc}	4.6±0.3 ^{aaa,bbb,cc}	375.8±13.2
70.dk	18.2±1.3	59.2±3.9 ^{aaa,bbb,cc}	4.5±0.3 ^{aa,bbb,c}	375.7±14.7
80.dk	17.7±1.1	57.6±3.1 ^{aaa,bbb,c}	4.4±0.2 ^{a,b}	370.7±11.8
90.dk	16.9±0.9	56.9±3.2 ^{aaa,bbb,c}	4.3±0.2 ^b	368.0±12.6
100.dk	17.2±0.9	57.9±3.4 ^{aaa,bbb,c}	4.4±0.3 ^{a,b}	373.7±18.7
110.dk	17.1±0.4	55.3±2.9 ^{a,bb}	4.2±0.2	367.0±16.6
120.dk	17.0±1.2	56.9±2.9 ^{aaa,bbb,c}	4.3±0.2 ^b	367.7±14.9

a, p<0.05; aa, p<0.01; aaa, p<0.001; Başlangıca göre anlamlılığı gösteriyor.

b, p<0.05; bb, p<0.01; bbb, p<0.001; 1.SF uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

c, p<0.05; cc, p<0.01; ccc, p<0.001; 2.SF uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

Nikorandil Uygulamasını Takiben Sitalopramın Elektrokardiyografik Parametreler ve Kalp Atım Hızı (KAH) Üzerine Etkisi

Nikorandili takiben uygulanan sitalopram QRS süresinde ve KAH'da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı (p>0.05) (Tablo 12). Nikorandili takiben uygulanan sitalopram QT intervalinde 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda başlangıca göre (%100.0±0.0,

%120.5±7.9, %121.0±5.3, %123.4±7.3, %122.4±4.6, %125.4±7.3, %125.8±7.7, %122.4±10.6, %123.2±8.7, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$); SF uygulamasına göre (%99.8±3.5, %120.5±7.9, %121.0±5.3, %123.4±7.3, %122.4±4.6, %125.4±7.3, %125.8±7.7, %122.4±10.6, %123.2±8.7, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$) ve nikorandil uygulamasına göre (%99.7±5.7, %120.5±7.9, %121.0±5.3, %123.4±7.3, %122.4±4.6, %125.4±7.3, %125.8±7.7, %122.4±10.6, %123.2±8.7, sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı uzama oluşturdu (Tablo 12).

Tablo 12. Nikorandil uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	14.2±1.9	47.9±5.2	3.9±0.5	404.2±23.5
1. İnkübasyon: SF uygulaması (i.p)	14.7±1.9	48.5±7.1	3.9±0.6	373.4±19.2
2. İnkübasyon: Nikorandil uygulaması (i.p)	13.7±1.8	48.1±7.1	3.8±0.6	359.8±22.1
Sitalopram uygulaması (i.p)				
10.dk	14.3±2.2	50.7±6.5	3.9±0.6	365.8±20.9
20.dk	15.1±2.8	50.7±5.0	4.1±0.4	388.0±10.6
30.dk	14.6±2.5	52.8±5.6	4.2±0.5	365.4±26.9
40.dk	14.9±2.0	54.4±7.3	4.2±0.7	363.0±25.8
50.dk	15.7±2.5	57.2±6.5 ^{a,b,c}	4.4±0.6	363.2±26.0
60.dk	14.7±2.3	57.6±6.4 ^{a,b,c}	4.5±0.6	367.6±25.0
70.dk	14.9±2.1	58.7±6.8 ^{a,b,cc}	4.6±0.6	356.0±32.3
80.dk	15.6±2.5	58.7±7.3 ^{a,b,c}	4.6±0.7	361.4±27.2
90.dk	14.4±2.2	59.1±4.9 ^{aa,bb,cc}	4.6±0.5	363.8±26.7
100.dk	15.7±2.4	59.3±5.2 ^{aa,bb,cc}	4.7±0.4 ^{b,c}	356.8±33.2
110.dk	15.1±2.3	57.2±4.8 ^{a,b,c}	4.6±0.4	358.0±30.9
120.dk	14.9±2.2	57.9±5.1 ^{a,b,c}	4.4±0.6	357.8±34.0

a, $p<0.05$; aa, $p<0.01$; Başlangıca göre anlamlılığı gösteriyor.

b, $p<0.05$; bb, $p<0.01$; SF uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

c, $p<0.05$; cc, $p<0.01$; Nikorandil uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

Nikorandili takiben uygulanan sitalopram QT_c intervalinde başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik oluşturmazken ($p>0.05$), sadece 100. dk'da SF uygulamasına göre (97.4 ± 3.9 , 123.8 ± 9.9 , $p<0.05$) ve nikorandil uygulamasına göre (95.1 ± 7.9 , 123.8 ± 9.9 , $p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı uzama oluşturdular (Tablo 12).

5-hydroxydecanoate (5-HD) Uygulamasını Takiben Sitalopramın Elektrokardiyografik Parametreler ve Kalp Atım Hızı (KAH) Üzerine Etkisi

5-HD'yi takiben uygulanan sitalopram, QRS süresinde ve KAH'da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmaz ($p>0.05$). 5-HD'yi takiben uygulanan sitalopram QT intervalinde 10., 20., 30., 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda başlangıça göre (100.0 ± 0.0 , 114.8 ± 4.4 , 113.7 ± 4.0 , 115.4 ± 2.2 , 116.8 ± 2.9 , 118.7 ± 4.6 , 116.5 ± 2.6 , 121.1 ± 3.5 , 116.8 ± 4.4 , 118.4 ± 4.0 , 117.7 ± 3.5 , 118.8 ± 3.4 , 118.4 ± 3.6 , sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$); 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda 5-HD uygulamasına göre (104.2 ± 1.2 , 116.8 ± 2.9 , 118.7 ± 4.6 , 116.5 ± 2.6 , 121.1 ± 3.5 , 116.8 ± 4.4 , 118.4 ± 4.0 , 117.7 ± 3.5 , 118.8 ± 3.4 , 118.4 ± 3.6 , sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$); 50., 70., 90., 110., 120. dk'larda SF uygulamasına göre (106.1 ± 2.1 , 118.7 ± 4.6 , 121.1 ± 3.5 , 118.4 ± 4.0 , 118.8 ± 3.4 , 118.4 ± 3.6 , sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı uzama oluşturdular (Tablo 13).

5-HD'yi takiben uygulanan sitalopram QT_c intervalinde 40., 50., 60., 70., 80., 90., 100., 110., 120. dk'larda başlangıça göre (100.0 ± 0.0 , 117.1 ± 4.2 , 117.2 ± 5.1 , 116.7 ± 3.5 , 122.1 ± 5.7 , 116.7 ± 5.2 , 118.5 ± 5.9 , 118.3 ± 5.8 , 119.9 ± 6.3 , 118.6 ± 6.0 , sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$); 70., 90., 100., 110., 120. dk'larda 5-HD uygulamasına göre (101.7 ± 0.9 , 122.1 ± 5.7 , 118.5 ± 5.9 , 118.3 ± 5.8 , 119.9 ± 6.3 , 118.6 ± 6.0 , sırasıyla $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$); 50., 70., 90., 100., 110., 120. dk'larda SF uygulamasına göre (100.9 ± 3.5 , 117.2 ± 5.1 , 122.1 ± 5.7 ,

%118.5±5.9, %118.3±5.8, %119.9±6.3, %118.6±6.0, sırasıyla p<0.05, p<0.01, p<0.05, p<0.05, p<0.01, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı uzama oluşturdur (Tablo 13).

Tablo 13. 5-hydroxydecanoate (5-HD) uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	12.9±0.9	46.7±1.5	3.8±0.2	389.8±26.2
1. İnkübasyon: 5-HD uygulaması (i.p)	12.8±0.9	48.6±1.4	3.9±0.2	365.8±24.4
2. İnkübasyon: SF uygulaması (i.p)	13.0±1.2	49.5±1.6	3.8±0.2	366.8±24.8
Sitalopram uygulaması (i.p)				
10.dk	14.3±1.2	53.5±2.2 ^{aa}	4.2±0.2	368.0±22.2
20.dk	13.7±0.9	52.9±1.9 ^a	4.1±0.1	377.8±15.8
30.dk	14.2±0.6	53.9±1.5 ^{aa}	4.3±0.2	393.7±18.4
40.dk	14.6±1.6	54.5±1.9 ^{aaa,b}	4.4±0.2 ^a	391.7±18.9
50.dk	14.6±0.7	55.2±1.6 ^{aaa,bb,c}	4.4±0.1 ^{a,c}	391.2±17.8
60.dk	13.2±0.9	54.2±0.9 ^{aaa,b}	4.4±0.1 ^a	396.7±17.1
70.dk	13.8±0.9	56.5±1.9 ^{aaa,bbb,cc}	4.6±0.2 ^{aaa,bb,cc}	399.3±14.7
80.dk	13.4±1.2	54.4±2.1 ^{aaa,b}	4.4±0.2 ^a	395.2±16.3
90.dk	13.9±1.2	55.1±1.8 ^{aaa,bb,c}	4.5±0.2 ^{a,b,c}	392.2±13.8
100.dk	14.0±1.2	54.8±1.2 ^{aaa,b}	4.5±0.1 ^{a,b,c}	398.2±13.4
110.dk	14.4±1.2	55.3±0.9 ^{aaa,bb,c}	4.5±0.1 ^{aa,b,cc}	401.3±17.5
120.dk	14.7±1.2	55.1±1.5 ^{aaa,bb,c}	4.5±0.2 ^{a,b,c}	389.0±11.2

a, p<0.05; aa, p<0.01; aaa, p<0.001; Başlangıca göre anlamlılığı gösteriyor.

b, p<0.05; bb, p<0.01; bbb, p<0.001; 5-HD uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

c, p<0.05; cc, p<0.01; SF uygulamasına göre anlamlılığı gösteriyor.

5-hydroxydecanoate (5-HD)+Nikorandil Uygulamasını Takiben Sitalopramın Elektrokardiyografik Parametreler ve Kalp Atım Hızı (KAH) Üzerine Etkisi

5-HD+nikorandili takiben uygulanan sitalopram, QRS süresi, QT intervali, QT_c intervali ve KAH'da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadi (p>0.05) (Tablo 14).

Tablo 14. 5-hydroxydecanoate (5-HD)+Nikorandil uygulamasını takiben sitalopramın elektrokardiyografik parametreler ve kalp atım hızı (KAH) üzerine etkisi

Deney periyodu	QRS (msn)	QT (msn)	QTc (msn)	KAH (atım/dk)
Başlangıç	14.6±1.3	47.5±1.1	3.9±0.1	395.2±15.2
1. İnkübasyon: 5-HD uygulaması (i.p)	15.6±0.6	47.6±2.4	3.7±0.2	366.0±15.6
2. İnkübasyon: Nikorandil uygulaması (i.p)	14.7±1.0	51.2±3.2	3.9±0.4	350.7±28.4
Sitalopram uygulaması (i.p)				
10.dk	15.6±1.2	51.8±1.0	3.9±0.1	343.0±31.8
20.dk	14.7±1.3	49.9±1.4	3.8±0.2	352.8±28.0
30.dk	15.1±0.8	48.9±1.5	3.7±0.1	338.5±32.5
40.dk	15.2±1.1	49.8±1.6	3.9±0.2	357.5±26.3
50.dk	15.4±0.8	49.9±1.0	3.8±0.2	352.5±26.8
60.dk	14.9±1.2	52.5±1.6	4.0±0.1	352.0±25.5
70.dk	14.7±1.1	52.9±1.4	4.1±0.1	357.2±26.5
80.dk	14.8±0.8	52.7±2.2	3.9±0.2	362.3±23.6
90.dk	16.6±0.9	52.9±2.4	4.1±0.2	371.5±22.1
100.dk	14.9±0.8	52.7±1.5	4.2±0.1	371.5±22.9
110.dk	15.5±0.9	52.3±2.4	4.1±0.2	376.7±25.5
120.dk	15.8±0.8	52.7±1.9	4.2±0.2	363.7±34.1

Tüm deney gruplarındaki sıçanlarda 102 mg/kg dozunda uygulanan sitalopram nedeniyle ölüm görülmedi.

Elektrokardiyografik Parametreler ve Kalp Atım Hızı (KAH)'ın Gruplararası Karşılaştırmaları

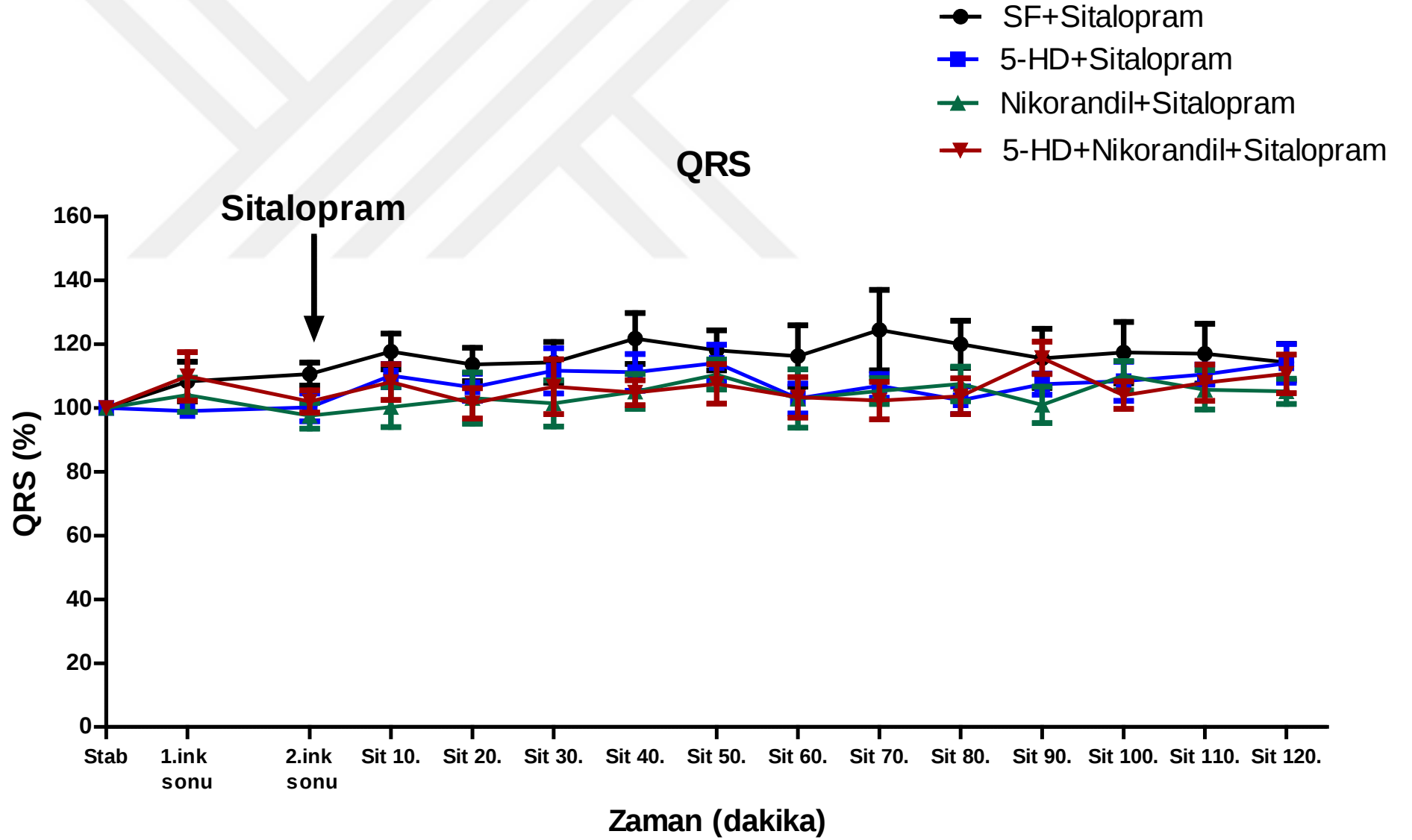
Deney boyunca gruplararası QRS süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Şekil 9).

Gruplararası karşılaştırma yapıldığında; nikorandil+sitalopram grubunda ve 5-HD+sitalopram grubunda, SF+sitalopram grubuna göre QT intervalinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun SF+sitalopram grubuna göre sitalopram uygulaması sonrası 60. dk'da QT intervalini

istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı (%126.4±4.3, %110.6±2.8, %95 GA 1.14-30.46, p<0.05) (Şekil 10).

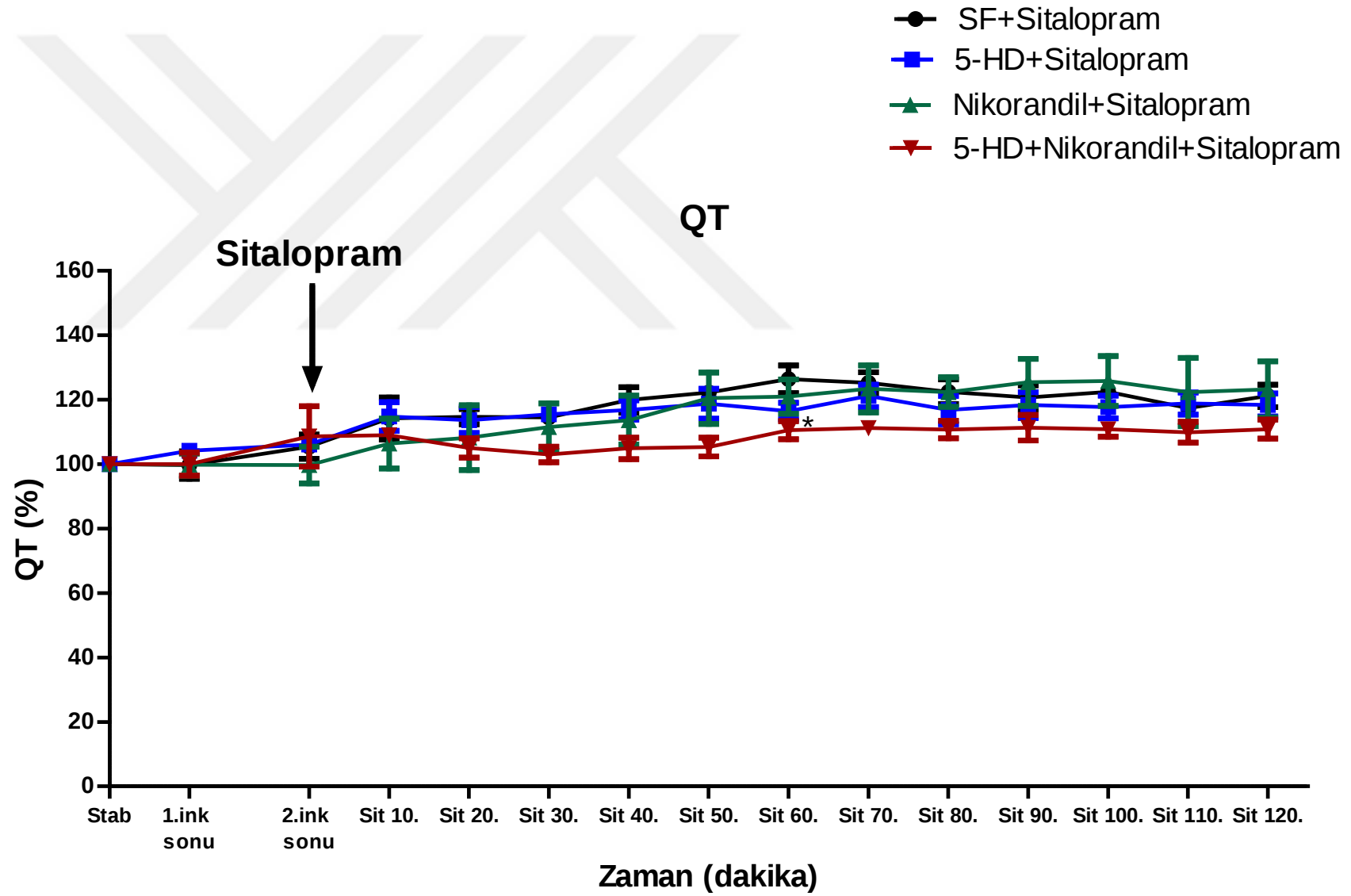
Gruplarası karşılaştırma yapıldığında; nikorandil+sitalopram grubunda ve 5-HD+sitalopram grubunda, SF+sitalopram grubuna göre QT_c intervalinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0.05). 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun SF+sitalopram grubuna göre sitalopram uygulaması sonrası 50. ve 60. dk'larda QT_c intervalini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı (%116.4±2.5, %98.2±4.6, %95 GA 0.93-35.64, p<0.05 50. dk'da; %119.7±3.9, %103.6±3.9, %95 GA 1.11-31.14, p<0.05 60. dk'da). 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun 5-HD+sitalopram grubuna göre sitalopram uygulaması sonrası 40. ve 50. dk'larda QT_c intervalini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı (%117.1±4.2, %100.3±4.8, % 95 GA 0.22-33.44, p<0.05 40. dk'da; %117.2±5.1, %98.2±4.6, %95 GA 1.75-36.45, p<0.05 50. dk'da) (Şekil 11).

Gruplarası karşılaştırma yapıldığında; 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun 5-HD+sitalopram grubuna göre sitalopram uygulaması sonrası 30. ve 60. dk'larda KAH'ı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı saptandı (%101.8±3.1, %84.9±5.4, %95 GA 0.18-33.62, p<0.05 30.dk'da; %102.9±4.2, %88.6±3.2, %95 GA 0.62-27.95, p<0.05 60. dk'da) (Şekil 12).



Şekil 9. Gruplararası QRS süreleri karşılaştırması

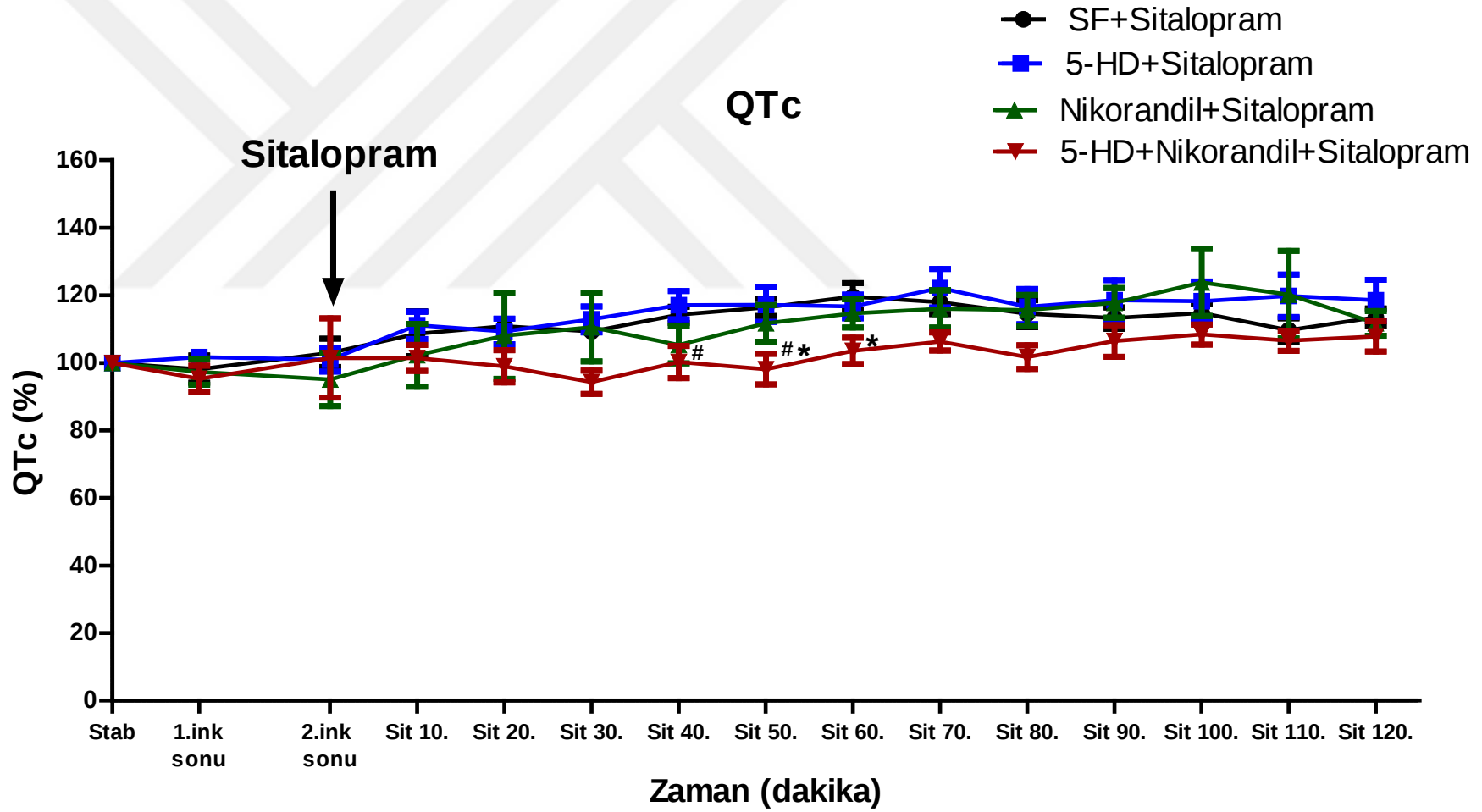
SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate.



Şekil 10. Gruplararası QT intervali karşılaştırması

SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate.

*, $p < 0.05$; 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun SF+sitalopram grubuna göre anlamlılığını gösteriyor.

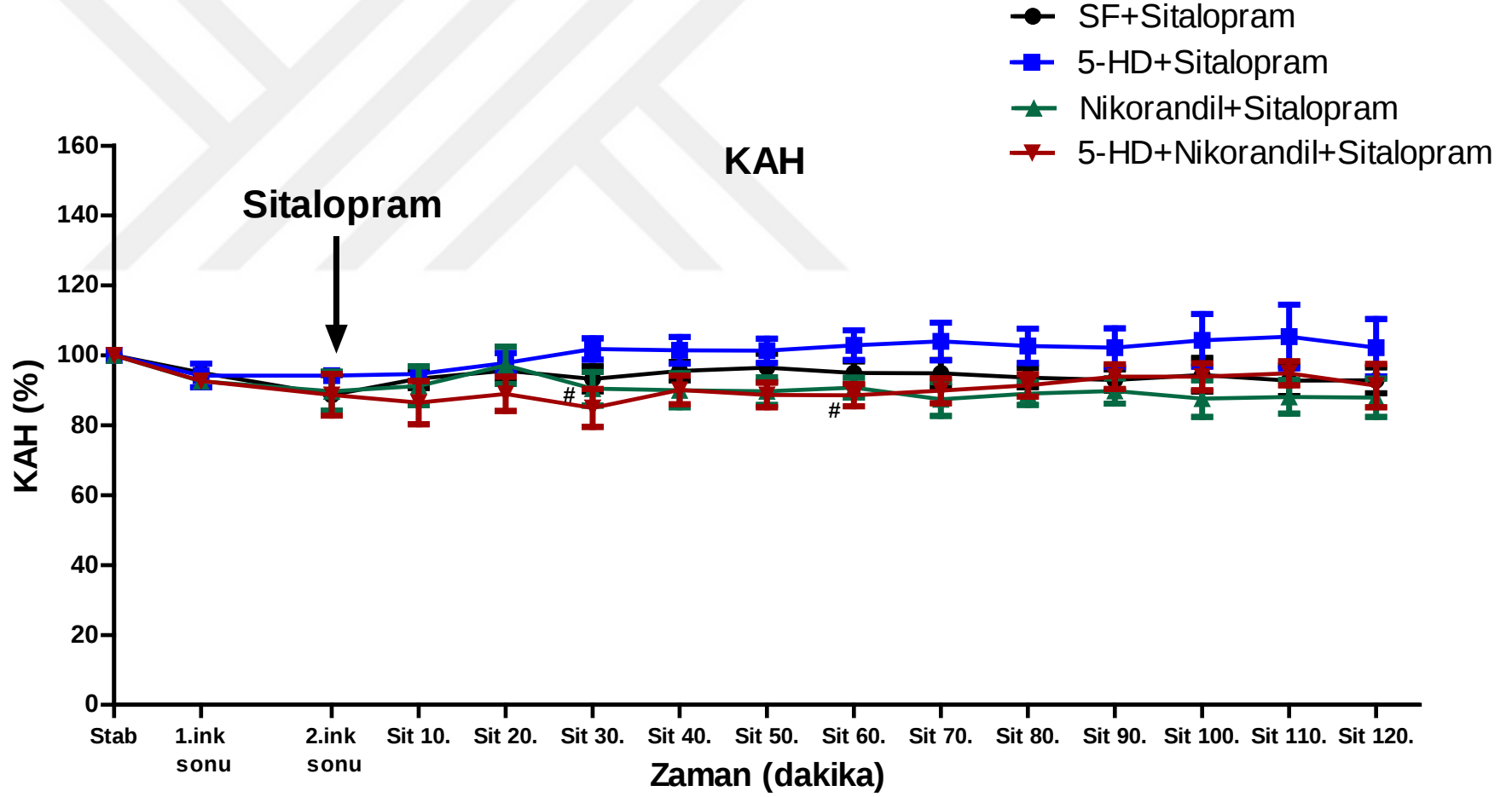


Şekil 11. Gruplararası düzeltilmiş QT intervali (QT_c) karşılaştırması

SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate.

*, p<0.05; 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun SF+sitalopram grubuna göre anlamlılığını gösteriyor.

#, p<0.05; 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun 5-HD+sitalopram grubuna göre anlamlılığını gösteriyor.



Şekil 12. Gruplararası kalp atım hızı (KAH) karşılaştırması

SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate.

#, $p < 0.05$; 5-HD+nikorandil+sitalopram grubunun 5-HD+sitalopram grubuna göre anlamlılığını gösteriyor.

Biyokimyasal Bulgular

Deney gruplarındaki sıçanların plazma ve doku örneklerindeki oksidan (MDA) ve antioksidan (GSH, GPX, SOD) parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 15,16).

Tablo 15. Plazma oksidan/antioksidan parametreler

Deney Grupları	MDA ($\mu\text{mol/L}$)	GSH ($\mu\text{mol/L}$)	GpX (mU/mL)	SOD (U/mL)
Kontrol	1.8 $\pm$ 0.3	12.4 $\pm$ 1.9	76.3 $\pm$ 6.4	14.7 $\pm$ 1.0
SF+ Sitalopram	1.9 $\pm$ 0.2	10.3 $\pm$ 1.6	68.6 $\pm$ 4.5	15.9 $\pm$ 0.4
Nikorandil+Sitalopram	1.5 $\pm$ 0.4	9.1 $\pm$ 0.6	76.6 $\pm$ 7.1	14.9 $\pm$ 0.2
5-HD+Sitalopram	1.5 $\pm$ 0.3	8.9 $\pm$ 0.9	62.5 $\pm$ 3.4	15.2 $\pm$ 0.3
5-HD+Nikorandil+Sitalopram	0.9 $\pm$ 0.1	8.3 $\pm$ 0.7	68.9 $\pm$ 8.4	15.3 $\pm$ 0.2

MDA: Malondialdehit, GSH: Redükte glutatyon, GpX: Glutatyon peroksidaz, SOD: Süperoksit dismutaz, 5-HD: 5-hydroxydecanoate, SF: Serum fizyolojik

Tablo 16. Doku oksidan/antioksidan parametreler

Deney Grupları	MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	GpX (mU/mg protein)	SOD (U/mg rotein)
Kontrol	0.4 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.2	11.7 $\pm$ 1.4	24.2 $\pm$ 2.4
SF+ Sitalopram	0.4 $\pm$ 0.1	4.9 $\pm$ 0.5	9.9 $\pm$ 1.2	16.9 $\pm$ 2.4
Nikorandil+Sitalopram	0.2 $\pm$ 0.1	5.6 $\pm$ 1.2	20.9 $\pm$ 5.7	39.9 $\pm$ 15.3
5-HD+Sitalopram	0.2 $\pm$ 0.1	6.0 $\pm$ 0.8	11.5 $\pm$ 2.4	21.1 $\pm$ 2.8
5-HD+Nikorandil+Sitalopram	0.2 $\pm$ 0.1	7.9 $\pm$ 1.4	17.1 $\pm$ 3.6	20.1 $\pm$ 2.5

MDA: Malondialdehit, GSH: Redükte glutatyon, GpX: Glutatyon peroksidaz, SOD: Süperoksit dismutaz, 5-HD: 5-hydroxydecanoate, SF: Serum fizyolojik

Histolojik Bulgular

Histomorfolojik değişiklikler: Sıçanların başlangıç histomorfolojik değerlendirmelerinin yapıldığı kontrol kalp kası hücreleri, merkezi yerleşimli nukleusları ve soluk boyanan sitoplazmaları ile histolojik olarak normal yapıda gözlemlendi. Diskus interkalaris yapısı ayırt edilmekteydi. Hücreler arası bağ dokuda artış gözlenmedi. SF+sitalopram grubunda nukleus yerleşimleri düzensizdi, sarkoplazma parçalanmaları gözlemlendi. Kalp kası hücrelerinin arasında inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlendi. Yer yer bağ doku artışı ve özellikle damarların çevresinde bağ doku fibrillerinde artış gözlemlendi. Hemorajik alanlar dikkat çekmekteydi. 5-HD+sitalopram grubunda da SF+sitalopram grubuna benzer özellikler gözlenirken; nikorandil+sitalopram ve 5-HD+nikorandil+sitalopram gruplarında tüm bu bulgularda azalma gözlemlendi (Resim 5,6).

Gruplararası histomorfolojik skorumla karşılaştırıldığında; SF+sitalopram grubunda kontrol değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p<0.01$). Nikorandil+sitalopram uygulamasının SF+sitalopram grubunda görülen bu artış istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü ($p<0.05$). Kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında, 5-HD+sitalopram grubunda SF+sitalopram grubuna benzer şekilde histomorfolojik skorumla istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0.01$). 5-HD+sitalopram grubundaki histomorfolojik skorumla nikorandil+sitalopram grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0.01$). 5-HD+nikorandil+sitalopram grubundaki histomorfolojik skorumla, 5-HD+sitalopram grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p<0.05$) (Tablo 17).

Tablo 17. Histomorfolojik skorumla

Deney grupları	Histomorfolojik Skor
Kontrol	0.1±0.1
SF+Sitalopram	2.1±0.3 ^a
Nikorandil+Sitalopram	1.3±0.2 ^{a,b}
5-HD+Sitalopram	2.1±0.1 ^{a,c}
5-HD+Nikorandil+Sitalopram	1.4±0.2 ^{a,d}

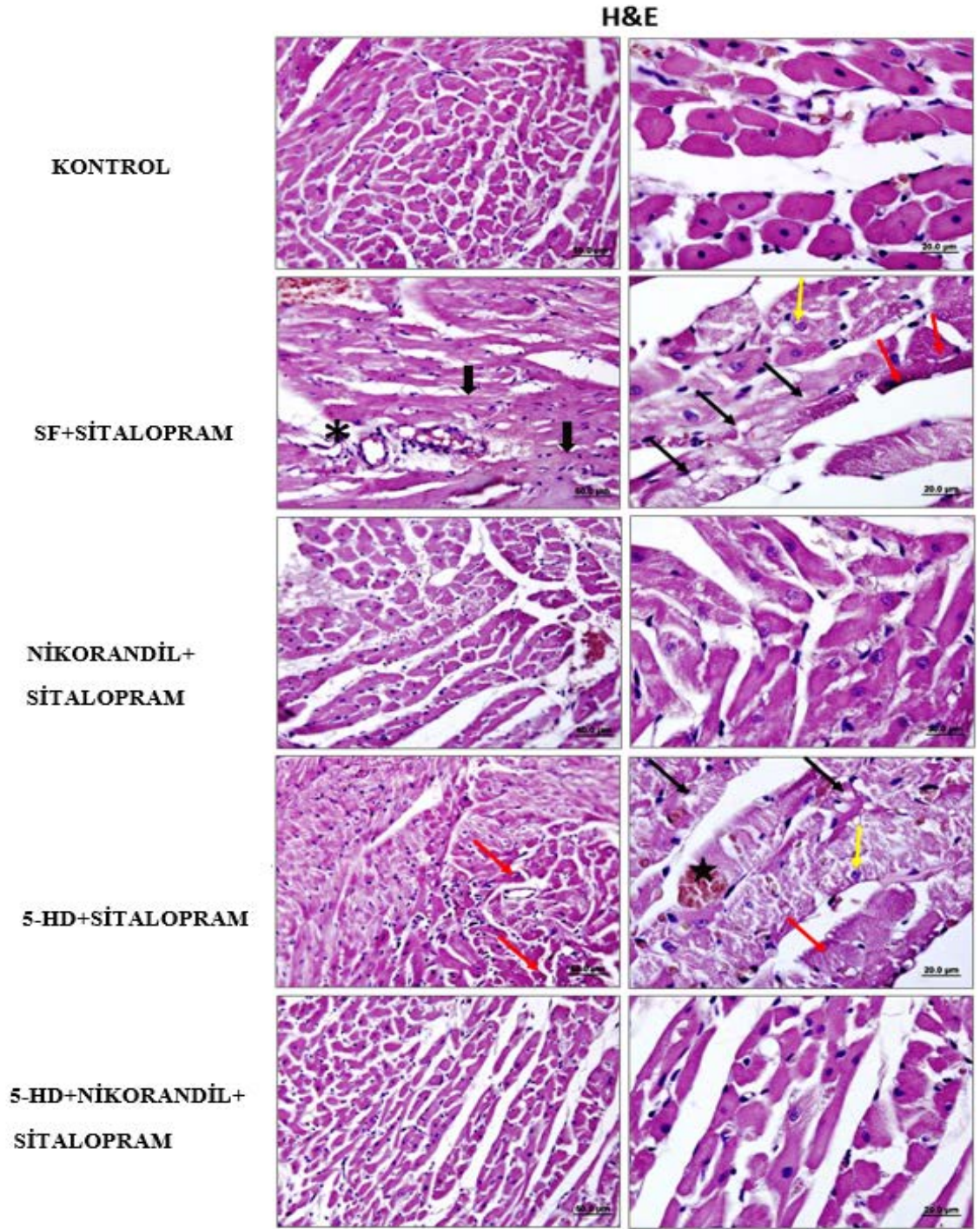
SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate

a, $p<0.01$; Kontrol değerlerine göre anlamlılığı gösteriyor.

b, $p<0.05$; SF+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.

c, $p<0.01$; Nikorandil+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.

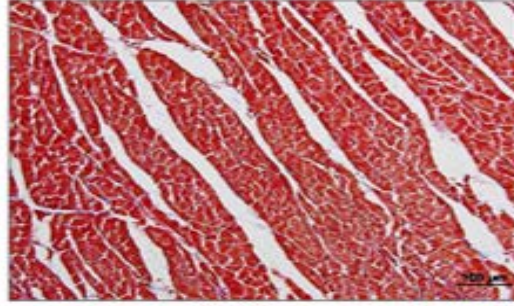
d, $p<0.05$; 5-HD+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.



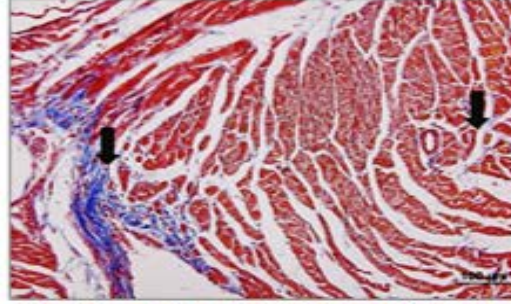
Resim 5. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. Hematoksilen-eozin boyaması. **Siyah kalın ok:** Düzensiz fibril yapısı, **Yıldız:** Kan damarlarında konjesyon, **İnce ok:** Hücrelerde vakuolizasyon, **Kırmızı ok:** Eozinofilik boyanma, **Sarı ok:** Perinükleer vakuolizasyon, *****: İnflamatuvar hücre infiltrasyonu. **SF:** Serum fizyolojik, **5-HD:** 5-hydroxydecanoate.

Masson Trikrom

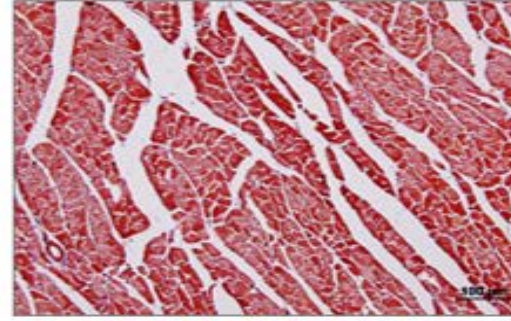
KONTROL



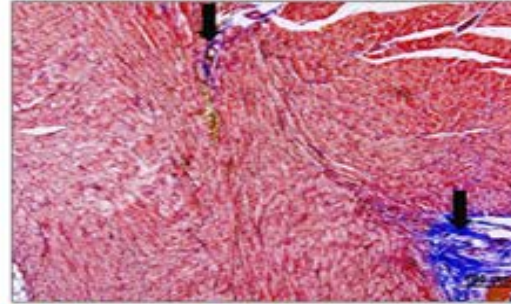
SF+SİTALOPRAM



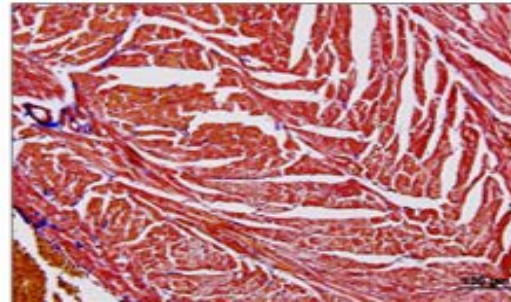
NİKORANDİL+
SİTALOPRAM



5-HD+SİTALOPRAM



5-HD+NİKORANDİL+
SİTALOPRAM



Resim 6. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. Masson Trikrom boyaması. **Siyah ok:** Artmış bağ doku fibrilleri. **SF:** Serum fizyolojik, **5-HD:** 5-hydroxydecanoate.

TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 immunohistokimyası: Gruplararası TUNEL (+) hücre sayısı karşılaştırıldığında; tüm gruplarda kontrol değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artma saptandı ($p<0.001$). Nikorandil+sitalopram ve 5-HD+nikorandil+sitalopram uygulamalarının, SF+sitalopram grubunda görülen artışı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü (her iki grupta $p<0.001$). 5-HD+sitalopram ve 5-HD+ nikorandil+sitalopram gruplarındaki TUNEL (+) hücre sayılarının nikorandil+sitalopram grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.05$). 5-HD+ nikorandil+sitalopram grubundaki TUNEL (+) hücre sayısı 5-HD+sitalopram grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p<0.001$).

Gruplararası Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayısı karşılaştırıldığında; tüm gruplarda kontrol değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artma saptandı ($p<0.001$). Nikorandil+sitalopram ve 5-HD+nikorandil+sitalopram uygulamalarının, SF+sitalopram grubunda görülen artışı istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı görüldü (her iki grupta $p<0.001$). 5-HD+sitalopram grubundaki Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayısının nikorandil+sitalopram grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlemlendi ($p<0.001$). 5-HD+nikorandil+sitalopram grubundaki Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayısı 5-HD+sitalopram grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p<0.001$) (Tablo 18, Resim 7).

Tablo 18. TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 (+) hücre sayıları

Deney grupları	TUNEL	Aktive KASPAZ-3
Kontrol	2.2±0.3	2.6±0.2
SF+Sitalopram	30.4±0.9 ^a	32.3±0.9 ^a
Nikorandil+Sitalopram	12.0±0.6 ^{a,b}	13.7±0.7 ^{a,b}
5-HD+Sitalopram	29.9±1.1 ^{a,cc}	29.9±0.9 ^{a,cc}
5-HD+Nikorandil+Sitalopram	14.3±0.5 ^{a,b,c,d}	15.0±0.7 ^{a,b,d}

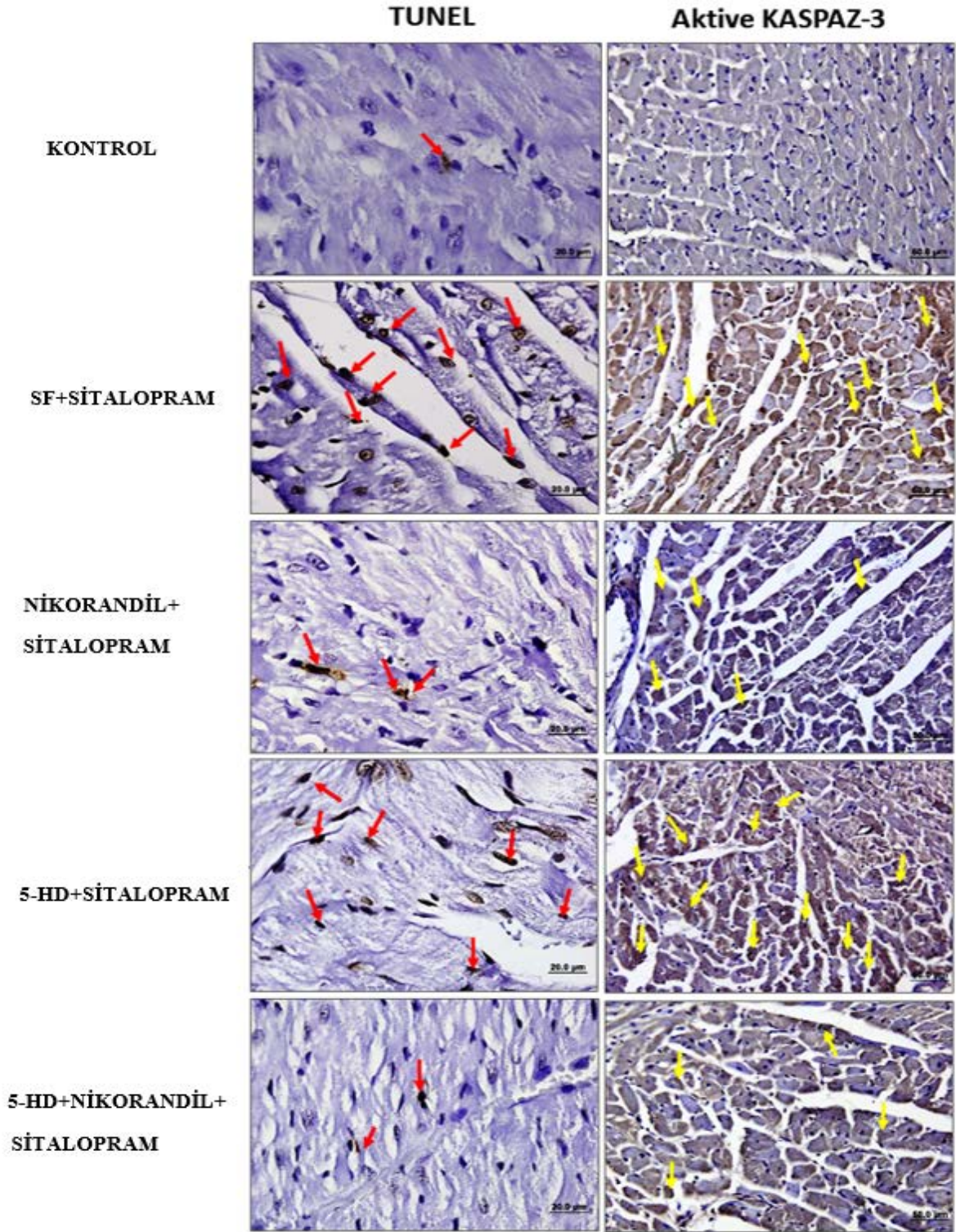
SF: Serum fizyolojik, 5-HD: 5-hydroxydecanoate

a, $p<0.001$; Kontrol değerlerine göre anlamlılığı gösteriyor.

b, $p<0.001$; SF+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.

c, $p<0.05$; cc, $p<0.001$; Nikorandil+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.

d, $p<0.001$; 5-HD+Sitalopram grubuna göre anlamlılığı gösteriyor.



Resim 7. Deney gruplarına ait kalp dokusu histolojik kesitleri. TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 boyaması. **Kırmızı ok:** TUNEL pozitif hücreler (Çekirdek boyanması), **Sarı ok:** Aktive KASPAZ-3 pozitif hücreler (Sitoplazmik boyanma). **SF:** Serum fizyolojik, **5-HD:** 5-hydroxydecanoate.

X. TARTIŞMA

Çalışmamızın amacı, selektif serotonin re-uptake inhibitörü (SSRI) olan sitlopramın indüklediği QT intervali uzaması ve miyokardiyal hasarda selektif mitokondriyal K_{ATP} (mito-K_{ATP}) kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu rolünün araştırılmasıdır.

Ön çalışmamızda sitlopramın QT intervalini uzatan dozu 102 mg/kg (intraperitoneal, i.p) bulundu. Tek başına uygulanan nikorandil ve 5-hydroxydecanoate'ın (5-HD) (selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü) kardiyovasküler parametreleri [Kalp atım hızı (KAH), QRS süresi, QT intervali ve düzeltilmiş QT intervali (QT_c)] etkilemediği gösterildi. Serum fizyolojik uygulamasını takiben sitlopram uygulanan (102 mg/kg, i.p) deney grubundaki sıçanların elektrokardiyografilerinde (EKG'lerinde) QRS süresi ve KAH'da anlamlı bir değişiklik oluşmazken, QT ve QT_c intervallerinde anlamlı uzama görüldü. Sitlopram uygulamasını takiben sıçanların plazma ve doku örneklerinden ölçülen oksidan/antioksidan parametrelerinde [(malondialdehit (MDA)/redükte glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GpX), süperoksit dismutaz (SOD)] kontrol değerlerine göre anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Sıçanların kalp kası hücreleri histomorfolojik olarak incelendiğinde düzensiz nükleus yerleşimleri, sarkoplazma parçalanmaları, inflamatuvar hücre infiltrasyonları, bağ doku artışı ve hemorajik alanlar gözlemlendi. Kontrol değerlerine göre histomorfolojik skor, TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 hücre sayıları anlamlı şekilde arttı. Nikorandili takiben sitlopram uygulaması sitlopramın indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamayı engellemedi, oksidan/antioksidan parametrelerde değişiklik oluşturmadı ancak histomorfolojik skor, TUNEL ve Aktive KASPAZ-3 hücre sayılarındaki artışı azalttı.

Çalışmamızda i.p yolla uygulanan sitlopramın QT intervali uzamasına neden olduğu toksik dozda, QT_c intervalini de uzattığı, oksidatif stres ile ilişkili olmayan miyokardiyal hasar ve apoptoza neden olduğu gösterildi. İ.p yolla uygulanan sitlopramın kardiyovasküler toksik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar incelendiğinde, sıçanlarda yapılan tek çalışmada yüksek doz sitlopram uygulamasına bağlı ölümlerin mekanizması ve medyan letal doz (MLD) incelenmiş, MLD 102 mg/kg olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada MLD'nin %120'si dozunda sitlopram uygulanan tüm sıçanlarda nöbet ve ölüm gözlenirken, MLD'nin %80'i dozunda sitlopram uygulanan sıçanların %23'ünde ölüm, %50'sinde nöbet bildirilmiştir ve ölümlerin serotonin toksisitesi ve nöbetlerle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (13). Bizim çalışmamızda ise MLD'ye eşit dozda uygulanan sitlopram nedeniyle sıçanlarda ölüm görülmemiştir.

İzole kobay atriyumunda yapılan *in-vitro* çalışmalarda sitapramın doz-bağımlı olarak (10-100 μ M) kardiyodepresan özellikler gösterdiği ve negatif inotropik/dromotropik etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (114).

Çalışmamızda sitapram zehirlenme modelinde EKG’de gözlediğimiz kardiyovasküler toksik etkiler, literatürde bu grup ilaçlara bağlı EKG bulguları ile uyumludur. SSRİ’lar arasında en yüksek kardiyak toksisite potansiyeline sahip antidepresan olan sitapramın hem terapötik hem de aşırı doz alımlarda QT ve QT_c intervallerini uzatabileceği bildirilmektedir (5). Isbister ve arkadaşlarının SSRİ grubu antidepresanların kardiyak toksik etkilerini karşılaştırdıkları çalışmada sitapramın, fluoksetin, fluvoksamin, paroksetin ve sertraline göre QT ve QT_c intervallerinde anlamlı uzamaya sebep olduğu ve rutin kardiyak monitörizasyon gerektiren tek SSRİ olduğu bildirilmiştir (6). Bizim çalışmamızda da sitapramın QT ve QT_c intervallerinde istatistiksel olarak anlamlı uzamaya neden olduğu gösterildi.

İlaçların indüklediği uzun QT sendromu (UQTS) mekanizması ile benzer şekilde sitapramın kalpte hERG geni (human ether-a-go-go related gene) ile kodlanan gecikmeli doğrultucu K⁺ akımının hızlı komponentini (IKr), gecikmeli doğrultucu potasyum akımının yavaş komponentini (IKs) ve L tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum akımının geç komponentini (ICaL) inhibe ettiği bildirilmektedir. Özellikle hERG kanalının inhibe olması, ventriküler aksiyon potansiyeli ve bağlantılı olarak da QT intervalinin uzaması ile sonuçlanmaktadır. Sitapramın kardiyak güvenlik profilinin incelenmesi amacıyla Patel ve arkadaşlarının yaptıkları kantitatif toksikolojik modelleme sisteminde; *in-vitro* kardiyak elektrofizyoloji çalışmaları verileri (kardiyak iyon kanallarının inhibisyonu ile) ve insan kardiyak elektrofizyoloji verileri değerlendirilmiş; bu çalışmada IKr/hERG akımına ek diğer iyon kanalları akımlarının ve sitapram metabolitlerinin [(desmetilsitapram (DCT), didesmetilsitapram (DDCT)] UQTS mekanizmasında rol oynadığı bildirilmiştir (60,62).

Literatürde sitapramın kardiyotoksik etki mekanizmasına ilişkin sıçanlarda yapılmış *in-vivo* iki adet çalışma mevcuttur. Oransay ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, infüzyon yoluyla 4 mg/kg/dk sitapram uygulamasından önce uygulanan selektif adenosin A₁ reseptör antagonisti DPCPX’in (8-Cyclopentyl-1,3-Dipropylxanthine) yüksek doz sitapramın oluşturduğu QT interval uzamasını engellediği bildirilmiştir (69). Büyükeligöz ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, infüzyon yoluyla 4 mg/kg/dk sitapram uygulamasından sonra uygulanan selektif adenosin A₁ reseptör antagonisti DPCPX’in

sitalopramın oluşturduğu QT interval uzamasını geri çevirdiği gösterilmiştir (10). Bu iki çalışmanın bulguları sitalopram ile indüklenen QT intervali uzamasının mekanizmasında adenozin A₁ reseptör stimülasyonunun da rolü olduğunu dşndrmştir (10,69,70).

Kalpdeki mito-K_{ATP} kanallarının özellikle kardiyoproteksiyonda önemli rolünün olduğu bildirilmektedir. Selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandil, K_{ATP} kanallarını açıcı etkisi ve nitrik oksit (NO) donörü özelliği ile koroner vazodilatasyon ve kardiyoproteksiyonda tercih edilen bir ajandır. Çalışmamızda nikorandili takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamayı engellemedi. 5-HD'yi takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamada değişiklik yapmadı. 5-HD+nikorandili takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği QT intervalindeki uzamayı sadece 60.dk'da, sitalopramın-indüklediği QT_c intervalindeki uzamayı ise 50. ve 60.dk'larda azalttı. 5-HD+nikorandili takiben sitalopram uygulaması, 5-HD'yi takiben sitalopram uygulamasının indüklediği QT_c intervali uzamasını 40. ve 50. dk'larda azalttı. Nikorandilin sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamayı engellememesi, 5-HD'nin sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c interval uzamasında bir değişiklik yapmaması ve deney grupları arasında gözlenen değişiklerinin sadece belirli dk'larda sınırlı kalması sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervali uzamasında selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu bir rol oynamadığını düşündürmektedir. Literatürde nikorandilin K_{ATP} kanallarını açması nedeniyle QT intervalini kısalttığı, ventriküler taşıkardileri önlediği ve UQTS tedavisinde potansiyel tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (18,107). Kobay UQTS modeli izole kalp ve elektrofizyoloji çalışmasında, kümülatif dozda uygulanan (5, 10 ve 30 μ M) nikorandilin doz-bağımlı olarak (zellikle 30 μ M dozunda) aksiyon potansiyeli süresi ve QT intervalini kısalttığı, ventriküler aritmileri ve erken ard depolarizasyonları (EAD) nlediği gösterilmiştir (115). *n-vivo* tavşan kalbinde ve köpek kalbinde yapılan iki çalışmada da sırasıyla intravenöz (i.v) infüzyonla 0.2 mg/kg ve 1 mg/kg dozunda uygulanan nikorandilin EAD'yi ve ventriküler taşiaritmileri önlediği bildirilmiştir (116,117). Hothi ve arkadaşlarının farelerde yaptıkları UQTS modeli izole kalp ve elektrofizyoloji çalışmasında, yüksek konsantrasyonlarda uygulanan nikorandilin (10 μ M ve 20 μ M dozlarında) repolarizasyon anormalliklerini düzelttiği ve antiaritmik etkilerinin olduğu saptanmıştır (107). *n-vivo* köpek kalbinde dijital ile indüklenmiş aritmi modelinde ise i.v yolla terapötik dozda uygulanan nikorandil (1 mg/kg ve 3 mg/kg) akut ve direkt antiaritmik etki göstermemiştir (118). İzofluran anestezisi altındaki maymunlarda terapötik dozda i.v yolla uygulanan nikorandilin (0.2 mg/kg

ve 2 mg/kg) vazodilatör etki ile sol ventrikül diyastol sonu basıncını azalttığı, QT/QT_c intervallerini kısalttığı ve (+) inotropik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (119). Biermann ve arkadaşlarının transgenik tavşan UQTS modeli izole kalp çalışmasında, 20 µM dozunda perfüzyonla uygulanan nikorandilin aksiyon potansiyeli süresini kısalttığı, repolarizasyon heterojenitesini azalttığı gösterilmiştir (20). K_{ATP} kanallarının açılmasında NO'nun rolünün araştırıldığı sıçanlarda yapılmış bir çalışmada, 3 mg/kg i.p yolla uygulanan nikorandilin sol ventrikülde endotelyal NO sentaz (eNOS) protein düzeyini istatistiksel anlamlı şekilde artırdığı ve bu etkinin K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (12 mg/kg/gün, peroral) tarafından inhibe edildiği saptanmış bu nedenle K_{ATP} kanal aktivasyonu yoluyla eNOS ekspresyonunun artmış olabileceğine dikkat çekilmiştir (111). QT interval uzamasında hERG/IKr akımının rolünün araştırıldığı tavşan izole kalp çalışmasında toksik konsantrasyonda uygulanan (100 µM) nikorandilin QT intervalini ve aksiyon potansiyeli süresini kısalttığı ancak hERG akımını etkilemediği bildirilmiştir (108). Kobay izole ventriküler miyositlerinde yapılmış bir çalışmada nikorandilin hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyi arttığında Na⁺/Ca⁺² değişimini [(Na⁺/Ca⁺² exchanger (NCX1), 3 Na⁺ 'a karşılık 1 Ca⁺²] stimüle ederek Ca⁺² çıkışını hızlandırdığı ve guanilat siklaz inhibitörü uygulandığında bu etkinin ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bununla birlikte sıçan aortunda pinasidil, diazoksit, minoksidil, kromakalim gibi diğer K_{ATP} kanal açıcı ilaçlarla yapılan çalışmalarda intraselüler cGMP artışının görülmemesi, nikorandilin K_{ATP} kanal açıcı ve intraselüler cGMP artırıcı etkisinin iki farklı mekanizma olduğunu düşündürmektedir (24).

Oksidatif stres, prooksidan-antioksidan sistem dengesinde bozulma sonucu prooksidan sistemin hakim hale gelip hücrel hasara yol açması durumudur. Oksidatif stresin biyobelirteçlerinden olan MDA ve aldehitler oksidan hasara ilişkin lipid peroksidasyonunu temsil etmektedir. SOD, CAT, GpX, GSH, Glutasyon-S-Transferaz (GST) ve Glutasyon Redüktaz (GR) gibi enzim/maddeler ise antioksidan savunma sistemini temsil etmektedir (120). Literatürde sitalopramın kardiyak toksisitede oksidan-antioksidan sistem üzerine etkilerine ilişkin çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda sitalopram uygulaması sıçanların plazma ve doku örneklerinden ölçülen oksidan/antioksidan parametrelerde (MDA /GSH, GpX ve SOD) anlamlı bir farklılık meydana getirmedi. Tüm deney grupları arasında da bu parametreler açısından bir farklılık görülmedi. Bu durum sitalopramın oluşturduğu kardiyotoksisitede oksidatif stresin rol oynamadığını düşündürmektedir. Ancak sitalopram ile oluşturulan hepatotoksisite ve reproduktif toksisite gibi farklı modellerde oksidatif stres ile ilişkili olduğu

gösterilmiştir. Ahmadian ve arkadaşlarının Sprague Dawley cinsi sıçanlarda yaptıkları çalışmada sitalopramla indüklenen hepatotoksisitede oksidatif hasarın rolü olduğu bildirilmiştir. Çalışmada hepatositlerde sitalopram (500 µM) maruziyetine bağlı reaktif oksijen türlerinde (ROS) ve lipid peroksidasyonunda artış, GSH'da azalma; *in-vivo* kısımda ise sitalopram (20 mg/kg, peroral) ile indüklenen histolojik hasar, inflamatuvar hücre infiltrasyonları ve hepatoselüler nekroz saptanmıştır (121). Bir diğer çalışmada sıçan reproduktif toksisite modelinde sitalopramın (10 mg/kg ve 20 mg/kg, peroral) oksidatif strese bağlı testislerde GSH düzeyinde azalmaya ve histolojik hasara neden olduğu bildirilmiştir (122). İnsanlarda sitalopramın oksidan-antioksidan parametrelere etkisinin incelendiği çalışmalar değerlendirildiğinde, Atmaca ve arkadaşlarının sosyal fobi hastalarında yaptıkları çalışmada serum MDA, SOD, GpX ve CAT 8 haftalık sitalopram tedavisi (20-60 mg/gün, peroral) öncesinde ve sonrasında değerlendirilmiş tüm parametrelerde sitalopram tedavisi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır (123). Khanzode ve arkadaşlarının yaptıkları randomize, prospektif, açık-etiketli çalışmada, majör depresyon hastalarında fluoksetin (20 mg/gün, peroral) ve sitalopram (20 mg/gün, peroral) tedavilerinin serum MDA, SOD ve plazma askorbik asit konsantrasyonlarına etkisi incelenmiş; MDA ve SOD değerlerinde 4 haftalık ve 12 haftalık tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı azalma, askorbik asit değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artma bildirilmiştir (124). Literatürde tedavi dozunda veya toksik dozda sitaloprama bağlı oksidatif stres ile ilişkili veriler yetersiz olup ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Çalışmamızda sitalopramın miyokardiyal hücrelerde histolojik hasara ve apoptozda artışa neden olduğunu saptadık. Literatürde sitalopramın miyokardiyal hücrelerde apoptoz üzerine etkisini değerlendiren çalışma bulunmamakla birlikte; periferik lenfositler ve akut miyeloid lösemi hücrelerinde yapılan çalışmalarda (*in-vitro*) sitalopramın apoptozu tetiklediği, bir çalışmada da anti-apoptotik etkilerinin olduğu bildirilmiştir. İnsan akut miyeloid lösemi hücrelerinde (HL-60 hücreleri) yapılan sitotoksikite çalışmasında, toksik dozda sitalopram (220 µM) inkübasyonunun apoptozu KASPAZ-3 aktivasyonu yoluyla indüklediği bildirilmiştir (125). Aynı çalışma grubunun insan T lenfositlerinde yaptıkları diğer iki çalışmada da sırasıyla 160 µM ve 180 µM dozunda sitalopram inkübasyonunun apoptozu indüklediği gösterilmiştir (126,127). Bunların tersine sıçan nöral krest kökenli PC12 hücre hattında yapılan bir çalışmada 60 µM dozunda sitalopram inkübasyonu uygulanan hücrelerde apoptoz oranının azaldığı, hücre canlılığının arttığı sonuç olarak anti-apoptotik etkilerin gözlemlendiği belirtilmiştir (128).

Çalışmamızda nikorandili takiben sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği histolojik hasarı ve apoptozu anlamlı şekilde engelledi. 5-HD'yi takiben sitalopram uygulaması ise nikorandil+sitalopramın histolojik hasarı ve apoptozu azaltıcı etkisini anlamlı şekilde artırdı. Bulgularımız nikorandilin literatürdeki kardiyoprotektif ve anti-apoptotik etkileri ile uyumludur. Çalışmamızda nikorandilin sitalopramın-indüklediği miyokardiyal hasarda koruyucu etkisi olduğu gösterildi. Ancak bu etkide anti-apoptotik etki rol oynarken anti-oksidan etkisinin katkısı gösterilememiştir. Bu durum, sitaloprama bağlı kardiyotoksisite modelimizde oksidatif stres oluşmadığı için nikorandilin antioksidan etkilerinin görülmemiş olabileceği ile açıklanabilir. Fare atriümü kökenli HL-1 kardiyomiyosit hücre hattında yapılan doksorubisinle indüklenen oksidatif stres çalışmasında, artan konsantrasyonlarda nikorandil inkübasyonunun (10-100 μ M) doksorubisinin artırdığı ROS miktarını ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, K_{ATP} kanal blokörü 5-HD uygulaması ile bu etkinin ortadan kalktığı bulunmuştur (129). Sıçan tip 2 diyabetik kardiyomiyopati modelinde peroral yolla 4 mg/kg dozunda uygulanan nikorandilin serum SOD aktivitesini artırıp MDA miktarını azaltarak anti-oksidan etkiler ile kardiyak hipertrofide koruyucu özellik gösterdiği bildirilmiştir (130). Sıçan miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde nikorandilin kardiyoprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışmada 3 mg/kg peroral yolla uygulanan nikorandilin iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı ventriküler aritmileri önlediği, azalan GSH seviyesini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı (anti-oksidan etki) ve histolojik bulguları iyileştirdiği (düzenli miyofibril-nükleus-nükleolus yapısı, sitoplazmik vakualizasyon ve ödemde azalma) bildirilmiştir (106). Ahmed ve arkadaşlarının yaptıkları doksorubisinle indüklenen sıçan kalp yetmezliği modelinde, 3 mg/kg peroral yolla uygulanan nikorandilin, miyositlerdeki apoptozu inhibe ettiği, KASPAZ-3 aktivitesini normalleştirdiği, pro-apoptotik proteinlerde down-regülasyona (sitokrom C, bax), anti-apoptotik proteinlerde (bcl-2) up-regülasyona neden olduğu ve oksidatif stresi azalttığı rapor edilmiştir (131). Bir diğer sıçan miyokardiyal iskemi-reperfüzyon modelinde nikorandil 5 mg/kg i.v yolla uygulanmış, bcl-2 ekspresyonunda anlamlı artış, bax ekspresyonunda anlamlı azalma ve anti-oksidan etkiler (MDA düzeyinde azalma, SOD aktivitesinde artma) gözlenmiştir (132). Refaie ve arkadaşlarının yaptıkları siklofosfomidle indüklenmiş kardiyotoksisite modelinde 3 mg/kg peroral uygulanan nikorandilin koruyucu etkileri ve mekanizması araştırılmış; bu amaçla K_{ATP} kanal inhibitörü glibenklamid ve eNOS'un rolüne ilişkin de nitro-L-arginine (L-NNA) uygulanmış, nikorandilin K_{ATP} kanal açıcı ve eNOS ekspresyonunu artırıcı etkisi ile anti-inflamatuar, anti-

apoptotik, anti-oksidan etkiler gösterdiği, histolojik hasarı azalttığı (hemoraji ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalma) bulunmuştur. Bu çalışmada glibenklamid ve L-NNA uygulaması ile nikorandilin koruyucu etkisi azalmıştır (133). Nikorandilin anti-apoptotik mekanizmasında eNOS fosforilasyonunu sağlayan PI3K/Akt sinyal yolağının araştırıldığı sıçan koroner mikroembolizasyon apoptozis modelinde, mikroembolizasyon öncesi yedi gün boyunca intragastrik yolla uygulanan 15 mg/kg nikorandilin kardiyomiyositlerde apoptoz oranını ve miyokardiyal hasarı azalttığı, *in-vitro* kısımda hipoksi ile indüklenmiş kardiyomiyosit apoptozunda, hipoksiden bir saat önce uygulanan nikorandilin (100 µM) yine apoptoz oranını azalttığı ve uygulanan PI3K spesifik inhibitörü LY294002'nin nikorandilin kardiyoprotektif etkilerini geri çevirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmada nikorandilin anti-apoptotik etkilerini başlıca PI3K/Akt sinyal yolağı gerçekleştirmiş olabileceğine dikkat çekilmiştir (134). Nikorandilin anti-apoptotik etkilerinde sadece K_{ATP} kanal açıcı etkisinin değil aynı zamanda nitrat benzeri (NO-cGMP sinyal yolağı) etkisinin de rolü olduğu vurgulanmaktadır. Ancak NO sinyal yolağı ile mito-K_{ATP} kanallarının açılmasının ilişkili olması sebebiyle nikorandilin etkilerinde bu iki komponenti ayırt etmenin zor olduğu da belirtilmektedir (135). Literatürdeki tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında nikorandilin kardiyoprotektif etkisinde (anti-apoptotik, anti-oksidan, anti-inflamatuvar); mito-K_{ATP} kanalları, NO-cGMP/PI3K-Akt sinyal yolağı ve KASPAZ-3, Bax/bcl-2/sitokrom C regülasyonu mekanizmalarının rol oynadığı söylenebilir.

XI. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda, ilk kez i.p yolla uygulanan sitalopramın EKG’de QT ve QT_c intervallerinde uzamaya, miyokardiyal hücrelerde histolojik hasara ve apoptozda artışa neden olduğu gösterildi. Oluşturduğumuz kardiyak toksisite modelinde sitalopramın oksidatif stresi artırmadığı bulundu. Bu durum sitalopramın oluşturduğu kardiyotoksistede oksidatif stresin rol oynamadığını düşündürmektedir.
2. Çalışmamızda nikorandil+sitalopram uygulamasının sitopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamayı engellememesi ve 5-HD’nin de sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervalindeki uzamada bir değişiklik yapmaması, sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervali uzamasında selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu bir rol oynamadığını düşündürmektedir.
3. Çalışmamızda nikorandil+sitalopram uygulaması sitalopramın-indüklediği histolojik hasarı ve apoptozu anlamlı şekilde engelledi. Oksidatif stres parametrelerinde ise anlamlı bir farklılık oluşturmadi. Çalışmamızda nikorandilin sitalopramın-indüklediği miyokardiyal hasarda koruyucu etkisi olduğu gösterildi. Bu etkide anti-apoptotik etki rol oynarken anti-oksidan etkisinin katkısı gösterilememiştir.
4. Çalışmamızda nikorandil (selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı)+sitalopram uygulamasının sitalopramın-indüklediği histolojik hasarı ve apoptozu azaltması, 5-HD (selektif mito-K_{ATP} kanal blokörü)+sitalopram uygulamasının ise nikorandil+sitalopramın histolojik hasarı ve apoptozu azaltıcı etkisini anlamlı şekilde artırması, sitalopramın oluşturduğu miyokardiyal hasarın mekanizmasında mito-K_{ATP} kanallarının rolü olabileceğini ve nikorandilin koruyucu etki yapabileceğini düşündürmektedir. Ancak diğer sinyal yollarının (NO-cGMP/PI3K-Akt) ve protein ekspresyonlarının da (Bax/bcl-2/sitokrom C, eNOS vb) incelendiği ileri araştırmaların planlanmasına gereksinim vardır.
5. Çalışmamızda sitalopramın-indüklediği QT ve QT_c intervali uzamasında selektif mito-K_{ATP} kanal açıcı olan nikorandilin koruyucu bir rol oynamadığı gösterilmekle birlikte sitalopramın-indüklediği QT intervali uzamasında nikorandilin tedavi edici potansiyeli de araştırılmalıdır.

XII. KAYNAKLAR

1. Van Noord C, Eijgelsheim M, Stricker BH. Drug- and non-drug-associated QT interval prolongation. *Br J Clin Pharmacol*. 2010;70(1):16-23.
2. Akturk G, Kalkan S. Drug-Induced QT Interval Prolongation: Mechanisms, Risk Factors, Genetics and Clinical Management. *J Basic Clin Health Sci*. 2019;3:193-198.
3. Isbister GK. Risk assessment of drug-induced QT prolongation. *Aust Prescr*. 2015;38(1):20-24.
4. Barbey JT, Roose SP. SSRI safety in overdose. *J Clin Psychiatry*. 1998;59 Suppl 15:42-48.
5. Kraai EP, Seifert SA. Citalopram Overdose: a Fatal Case. *J Med Toxicol*. 2015;11(2):232-236.
6. Isbister GK, Bowe SJ, Dawson A, Whyte IM. Relative toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in overdose. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004;42(3):277-285.
7. Tampi RR, Balderas M, Carter KV, Tampi DJ ve ark. Citalopram, QTc Prolongation, and Torsades de Pointes. *Psychosomatics*. 2015;56(1):36-43.
8. Fayssol A, Issi J, Guerbaa M, Raynaud JC ve ark. Torsade de pointes induced by citalopram and amiodarone. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*. 2011;60(3):165-168.
9. Hoffman RS (Ed), Nelson LS (Ed), Howland MA (Ed), Lewin NA (Ed) ve ark. Goldfrank's manual of toxicologic emergencies. Eighth edition. New York: McGraw-Hill Education, 2007;599-614.
10. Büyükdeliğöz M, Hocaoglu N, Oransay K, Tunçok Y ve ark. The Effects of the Adenosine Receptor Antagonists on the Reverse of Cardiovascular Toxic Effects Induced by Citalopram In-Vivo Rat Model of Poisoning. *Balkan Med J*. 2015;32(3):303-308.
11. Grundemar L, Wohlfart B, Lagerstedt C, Bengtsson F ve ark. Symptoms and signs of severe citalopram overdose. *Lancet*. 1997;349(9065):1602.
12. Elie D, Noohi S, Do A, Mahdanian A ve ark. Citalopram and escitalopram: adverse cardiac outcomes in medically ill inpatients. *Ther Adv Drug Saf*. 2016;7(5):225-226.
13. Beaune S, Callebort J, Baud FJ, Risède P ve ark. Mechanisms of high-dose citalopram-induced death in a rat model. *Toxicology*. 2012;302(2-3):248-254.
14. Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE ve ark. 2018 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 36th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2019;57(12):1220-1413.

15. Unverir P, Atilla R, Karcioğlu O, Topacoglu H et al. A retrospective analysis of antidepressant poisonings in the emergency department: 11-year experience. *Hum Exp Toxicol.* 2006;25(10):605-612.
16. Tinker A, Aziz Q, Li Y, Specterman M. ATP-Sensitive Potassium Channels and Their Physiological and Pathophysiological Roles. *Compr Physiol.* 2018;8(4):1463-1511.
17. Mannhold R. KATP channel openers: structure-activity relationships and therapeutic potential. *Med Res Rev.* 2004;24(2):213-266.
18. Khan IA, Gowda RM. Novel therapeutics for treatment of long-QT syndrome and torsade de pointes. *Int J Cardiol.* 2004;95(1):1-6.
19. Abdel-Raheem IT, Taye A, Abouzied MM. Cardioprotective Effects of Nicorandil, a Mitochondrial Potassium Channel Opener against Doxorubicin-induced Cardiotoxicity in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2013;113(3):158–166.
20. Biermann J, Wu K, Odening KE, Asbach S ve ark. Nicorandil normalizes prolonged repolarisation in the first transgenic rabbit model with Long-QT syndrome 1 both in vitro and in vivo. *Eur J Pharmacol.* 2011;650(1):309-316.
21. Nishikawa S, Tatsumi T, Shiraishi J, Matsunaga S ve ark. Nicorandil regulates Bcl-2 family proteins and protects cardiac myocytes against hypoxia-induced apoptosis. *J Mol Cell Cardiol.* 2006;40(4):510-519.
22. Mercanoglu, F., Koylan, N. İskemik Kalp Hastalığı Tedavisinde Farklı Bir Mekanizma: K⁺ Kanal Aktivasyonu ve Nicorandil. *Türk Kardiyol Dern Arş.* 1994;22(1):43-48.
23. Horinaka S. Use of nicorandil in cardiovascular disease and its optimization. *Drugs.* 2011;71(9):1105-1119.
24. Wei J, Watanabe Y, Takeuchi K, Yamashita K ve ark. Nicorandil stimulates a Na⁺/Ca²⁺ exchanger by activating guanylate cyclase in guinea pig cardiac myocytes. *Pflugers Arch.* 2016;468(4):693-703.
25. Afzal MZ, Reiter M, Gastonguay C, McGivern JV ve ark. Nicorandil, a Nitric Oxide Donor and ATP-Sensitive Potassium Channel Opener, Protects Against Dystrophin-Deficient Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2016;21(6):549-562.
26. Wu H, Ye M, Yang J, Ding J ve ark. Nicorandil Protects the Heart from Ischemia/Reperfusion Injury by Attenuating Endoplasmic Reticulum Response-induced Apoptosis Through PI3K/Akt Signaling Pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(6):2320-2332.

27. Beitland S, Platou ES, Sunde K. Drug-induced long QT syndrome and fatal arrhythmias in the intensive care unit. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2014;58(3):266-272.
28. Alvarez E, Vieira S, Garcia-Moll X. Citalopram, escitalopram and prolonged QT: warning or alarm?. *Rev Psiquiatr Salud Ment*. 2014;7(3):147-150.
29. Nachimuthu S, Assar MD, Schussler JM. Drug-induced QT interval prolongation: mechanisms and clinical management. *Ther Adv Drug Saf*. 2012;3(5):241-253.
30. Letsas KP, Efremidis M, Filippatos GS, Sideris AM. Drug-induced long QT syndrome. *Hellenic J Cardiol*. 2007;48(5):296-299.
31. Uvelin A, Pejaković J, Mijatović V. Acquired prolongation of QT interval as a risk factor for torsade de pointes ventricular tachycardia: a narrative review for the anesthesiologist and intensivist. *J Anesth*. 2017;31(3):413-423.
32. Zhang Y, Baranchuk A, Hancox JC. Towards limiting QT interval prolongation and arrhythmia risk in citalopram use. *Cardiol J*. 2014;21(5):454-457.
33. Bektaşoğlu G, Yılmaz M, Turgut O, Tandoğan İ. Uzun QT sendromları. *Cumhuriyet Med J*. 2009;31(4):487-501.
34. Khan IA. Long QT syndrome: diagnosis and management. *Am Heart J*. 2002;143(1):7-14.
35. Drew BJ, Ackerman MJ, Funk M, Gibler WB ve ark. Prevention of torsade de pointes in hospital settings: a scientific statement from the American Heart Association and the American College of Cardiology Foundation. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(9):934-947.
36. Tamargo J. Drug-induced torsade de pointes: from molecular biology to bedside. *Jpn J Pharmacol*. 2000;83(1):1-19.
37. Kallergis EM, Goudis CA, Simantirakis EN, Kochiadakis GE ve ark. Mechanisms, risk factors, and management of acquired long QT syndrome: a comprehensive review. *ScientificWorldJournal*. 2012;2012:212178.
38. Barra S, Agarwal S, Begley D, Providência R. Post-acute management of the acquired long QT syndrome. *Postgrad Med J*. 2014;90(1064):348-358.
39. Karamustafalıoğlu O, Yumrukçal H. Depresyon ve anksiyete bozuklukları. *Sisli Etfal Hastan Tip Bul*. 2011;45(2):65-74.
40. Ray PÇ, Demirkol ME, Tamam L. Beden dismorfik bozukluğu. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*. 2012;4(4):547-565.

41. Schatzberg AF (Ed), Nemeroff CB (Ed). The American psychiatric publishing textbook of psychopharmacology. Fourth edition. Washington: American Psychiatric Publishing; 2009.
42. Jha MK, Rush AJ, Trivedi MH. When Discontinuing SSRI Antidepressants Is a Challenge: Management Tips. *Am J Psychiatry*. 2018;175(12):1176-1184.
43. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (erişim tarihi: 07.05.2020).
44. Noble S, Benfield P. Citalopram: A Review of its Pharmacology, Clinical Efficacy and Tolerability in the Treatment of Depression. *CNS drugs*. 1997;8(5):410-431.
45. Bezchlibnyk-Butler K, Aleksic I, Kennedy SH. Citalopram--a review of pharmacological and clinical effects. *J Psychiatry Neurosci*. 2000;25(3):241-254.
46. Sánchez C. The pharmacology of citalopram enantiomers: the antagonism by R-citalopram on the effect of S-citalopram. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;99(2):91-95.
47. Product Information: Celexa(R) oral tablets, solution, citalopram hydrobromide oral tablets, solution. Forest Pharmaceuticals, Inc. (per FDA), St. Louis, MO, 2012. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/020822s038s040,021046s016s017lbl.pdf (erişim tarihi: 06.04.2020).
48. Brøsen K, Naranjo CA. Review of pharmacokinetic and pharmacodynamic interaction studies with citalopram. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2001;11(4):275-283.
49. Akil A, Bies RR, Pollock BG, Avramopoulos D ve ark. A population pharmacokinetic model for R- and S-citalopram and desmethylcitalopram in Alzheimer's disease patients with agitation. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2016;43(1):99-109.
50. Sangkuhl K, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: citalopram pharmacokinetics pathway. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;21(11):769-772.
51. Milne RJ, Goa KL. Citalopram. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depressive illness. *Drugs*. 1991;41(3):450-477.
52. Baettig D, Bondolfi G, Montaldi S, Amey M ve ark. Tricyclic antidepressant plasma levels after augmentation with citalopram: a case study. *Eur J Clin Pharmacol*. 1993;44(4):403-405.
53. Katzung BG (Ed). Basic and clinical pharmacology. 14th edition. New York: McGraw-Hill Education, 2018;1156-1173.
54. Vieweg WV, Hasnain M, Howland RH, Hettema JM ve ark. Citalopram, QTc interval prolongation, and torsade de pointes. How should we apply the recent FDA ruling?. *Am J Med*. 2012;125(9):859-868.

55. Wu X, Zhang H, Miah MK, Caritis SN ve ark. Physiologically Based Pharmacokinetic Approach Can Successfully Predict Pharmacokinetics of Citalopram in Different Patient Populations. *J Clin Pharmacol*. 2020;60(4):477-488.
56. POISINDEX® System (electronic version): IBM Watson Health, Greenwood Village, Colorado, USA. Available at: <https://www.micromedexsolutions.com/> (erişim tarihi: 06.04.2020).
57. Kogut C, Crouse EB, Vieweg WV, Hasnain M ve ark. Selective serotonin reuptake inhibitors and torsade de pointes: new concepts and new directions derived from a systematic review of case reports. *Ther Adv Drug Saf*. 2013;4(5):189-198.
58. Luchini D, Morabito G, Centini F. Case report of a fatal intoxication by citalopram. *Am J Forensic Med Pathol*. 2005;26(4):352-354.
59. Catalano G, Catalano MC, Epstein MA, Tsambiras PE. QTc interval prolongation associated with citalopram overdose: a case report and literature review. *Clin Neuropharmacol*. 2001;24(3):158-162.
60. Patel N, Wiśniowska B, Jamei M, Polak S. Real Patient and its Virtual Twin: Application of Quantitative Systems Toxicology Modelling in the Cardiac Safety Assessment of Citalopram. *AAPS J*. 2018;20(1):6.
61. Hamplová-Peichlová J, Krůsek J, Paclt I, Slavíček J ve ark. Citalopram inhibits L-type calcium channel current in rat cardiomyocytes in culture. *Physiol Res*. 2002;51(3):317-321.
62. Witchel HJ, Pabbathi VK, Hofmann G, Paul AA ve ark. Inhibitory actions of the selective serotonin re-uptake inhibitor citalopram on HERG and ventricular L-type calcium currents. *FEBS Lett*. 2002;512(1-3):59-66.
63. Perrin MJ, Subbiah RN, Vandenberg JJ, Hill AP. Human ether-a-go-go related gene (hERG) K⁺ channels: function and dysfunction. *Prog Biophys Mol Biol*. 2008;98(2-3):137-148.
64. Picard S, Lacroix P. QT interval prolongation and cardiac risk assessment for novel drugs. *Curr Opin Investig Drugs*. 2003;4(3):303-308.
65. Janse MJ, Wilde AA. Molecular mechanisms of arrhythmias. *Rev Port Cardiol*. 1998;17 Suppl 2:II41-II46.
66. Thomas D, Karle CA, Kiehn J. The cardiac hERG/IKr potassium channel as pharmacological target: structure, function, regulation, and clinical applications. *Curr Pharm Des*. 2006;12(18):2271-2283.

67. Pacher P, Ungvari Z, Nanasi PP, Furst S ve ark. Speculations on difference between tricyclic and selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants on their cardiac effects. Is there any?. *Curr Med Chem*. 1999;6(6):469-480.
68. Pousti A, Malihi G, Naghibi B. Effect of citalopram on ouabain-induced arrhythmia in isolated guinea-pig atria. *Hum Psychopharmacol*. 2003;18(2):121-124.
69. Oransay K, Hocaoglu N, Buyukdeligoz M, Tuncok Y ve ark. The role of adenosine receptors and endogenous adenosine in citalopram-induced cardiovascular toxicity. *Indian J Pharmacol*. 2014;46(4):378-385.
70. Lung D, Yeh K, Kiang C. Delayed, fatal cardiotoxicity associated with bupropion and citalopram overdose. *J Clin Psychopharmacol*. 2012;32(3):431-434.
71. Lung DD, Wu AH, Gerona RR. Cardiotoxicity in a citalopram and olanzapine overdose. *J Emerg Med*. 2013;45(4):554-558.
72. Jimmink A, Caminada K, Hunfeld NG, Touw DJ. Clinical toxicology of citalopram after acute intoxication with the sole drug or in combination with other drugs: overview of 26 cases. *Ther Drug Monit*. 2008;30(3):365-371.
73. Kelly CA, Dhaun N, Laing WJ, Strachan FE ve ark. Comparative toxicity of citalopram and the newer antidepressants after overdose. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2004;42(1):67-71.
74. Personne M, Persson H, Sjöberg E. Citalopram toxicity. *Lancet*. 1997;350(9076):518-519.
75. Neuvonen PJ, Pohjola-Sintonen S, Tacke U, Vuori E. Five fatal cases of serotonin syndrome after moclobemide-citalopram or moclobemide-clomipramine overdoses. *Lancet*. 1993;342(8884):1419.
76. Olson KR (Ed). *Poisoning and Drug Overdose*. 5th edition. USA: McGraw-Hill Education, 2007;88-90.
77. Kelly CA, Upex A, Spencer EP, Flanagan RJ ve ark. Adult respiratory distress syndrome and renal failure associated with citalopram overdose. *Hum Exp Toxicol*. 2003;22(2):103-105.
78. Dent LA, Brown WC, Murney JD. Citalopram-induced priapism. *Pharmacotherapy*. 2002;22(4):538-541.
79. Duncan RA, Armstrong PA, Paterson B. Severe hypoglycaemia in citalopram overdose. *Eur J Emerg Med*. 2008;15(4):234-235.
80. Tuncok Y (Ed), Kalyoncu NI (Ed). *Birinci basamağa yönelik zehirlenmeler tanı ve tedavi rehberleri*. Ankara, Özkan matbaacılık; 2008:23-28.

81. Personne M, Sjöberg G, Persson H. Citalopram overdose--review of cases treated in Swedish hospitals. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1997;35(3):237-240.
82. Isbister GK, Friberg LE, Stokes B, Buckley NA ve ark. Activated charcoal decreases the risk of QT prolongation after citalopram overdose. *Ann Emerg Med.* 2007;50(5):593-600.e6046.
83. Lavonas EJ, Drennan IR, Gabrielli A, Heffner AC ve ark. Part 10: Special Circumstances of Resuscitation: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation.* 2015;132(18 Suppl 2):S501-S518.
84. Haynick M, Hasyn M, Overberg A. Use of intravenous lipid emulsion in the management of a citalopram overdose. *Clin Toxicol* 2019; 57(10):950-951.
85. Tinker A, Aziz Q, Thomas A. The role of ATP-sensitive potassium channels in cellular function and protection in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol.* 2014;171(1):12-23.
86. Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S ve ark. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev.* 2010;90(1):291-366.
87. Yang HQ, Subbotina E, Ramasamy R, Coetzee WA. Cardiovascular KATP channels and advanced aging. *Pathobiol Aging Age Relat Dis.* 2016;6:32517.
88. Jahangir A, Terzic A. K(ATP) channel therapeutics at the bedside. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39(1):99-112.
89. Wang Y, Haider HK, Ahmad N, Ashraf M. Mechanisms by which K(ATP) channel openers produce acute and delayed cardioprotection. *Vascul Pharmacol.* 2005;42(5-6):253-264.
90. Sato T, Sasaki N, Seharaseyon J, O'Rourke B ve ark. Selective pharmacological agents implicate mitochondrial but not sarcolemmal K(ATP) channels in ischemic cardioprotection. *Circulation.* 2000;101(20):2418-2423.
91. Foster MN, Coetzee WA. KATP Channels in the Cardiovascular System. *Physiol Rev.* 2016;96(1):177-252.
92. Ardehali H, O'Rourke B. Mitochondrial K(ATP) channels in cell survival and death. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;39(1):7-16.
93. Suzuki M, Sasaki N, Miki T, Sakamoto N ve ark. Role of sarcolemmal K(ATP) channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest.* 2002;109(4):509-516.

94. Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res.* 1992;70(2):223-233.
95. Gumina RJ, Pucar D, Bast P, Hodgson DM ve ark. Knockout of Kir6.2 negates ischemic preconditioning-induced protection of myocardial energetics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284(6):H2106-H2113.
96. Fedorov VV, Glukhov AV, Ambrosi CM, Kostecki G ve ark. Effects of KATP channel openers diazoxide and pinacidil in coronary-perfused atria and ventricles from failing and non-failing human hearts. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;51(2):215-225.
97. Isidoro Tavares N, Philip-Couderc P, Baertschi AJ, Lerch R ve ark. Angiotensin II and tumour necrosis factor alpha as mediators of ATP-dependent potassium channel remodelling in post-infarction heart failure. *Cardiovasc Res.* 2009;83(4):726-736.
98. Blanco-Rivero J, Gamallo C, Aras-López R, Cobeño L ve ark. Decreased expression of aortic KIR6.1 and SUR2B in hypertension does not correlate with changes in the functional role of K(ATP) channels. *Eur J Pharmacol.* 2008;587(1-3):204-208.
99. Tajada S, Ciudad P, Moreno-Domínguez A, Pérez-García MT ve ark. High blood pressure associates with the remodelling of inward rectifier K⁺ channels in mice mesenteric vascular smooth muscle cells. *J Physiol.* 2012;590(23):6075-6091.
100. Tarkin JM, Kaski JC. Vasodilator Therapy: Nitrates and Nicorandil. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2016;30(4):367-378.
101. Frampton J, Buckley MM, Fitton A. Nicorandil. A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in angina pectoris. *Drugs.* 1992;44(4):625-655.
102. Frydman AM, Chapelle P, Diekmann H, Bruno R. Pharmacokinetics of nicorandil. *Am J Cardiol.* 1989;63(21):25J-33J.
103. Goldschmidt M, Landzberg BR, Frishman WH. Nicorandil: a potassium channel opening drug for treatment of ischemic heart disease. *J Clin Pharmacol.* 1996;36(7):559-572.
104. Das B, Sarkar C. Is the sarcolemmal or mitochondrial K(ATP) channel activation important in the antiarrhythmic and cardioprotective effects during acute ischemia/reperfusion in the intact anesthetized rabbit model?. *Life Sci.* 2005;77(11):1226-1248.

105. Jia D. The protective effect of mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel opener, nicorandil, combined with Na⁺/Ca²⁺ exchange blocker KB-R7943 on myocardial ischemia-reperfusion injury in rat. *Cell Biochem Biophys*. 2011;60(3):219-224.
106. Ahmed LA, Salem HA, Attia AS, Agha AM. Pharmacological preconditioning with nicorandil and pioglitazone attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Eur J Pharmacol*. 2011;663(1-3):51-58.
107. Hothi SS, Booth SW, Sabir IN, Killeen MJ ve ark. Arrhythmogenic substrate and its modification by nicorandil in a murine model of long QT type 3 syndrome. *Prog Biophys Mol Biol*. 2008;98(2-3):267-280.
108. Lu HR, Vlamincx E, Hermans AN, Rohrbacher J ve ark. Predicting drug-induced changes in QT interval and arrhythmias: QT-shortening drugs point to gaps in the ICHS7B Guidelines. *Br J Pharmacol*. 2008;154(7):1427-1438.
109. Testai L, Cecchetti V, Sabatini S, Martelli A ve ark. Effects of K openers on the QT prolongation induced by HERG-blocking drugs in guinea-pigs. *J Pharm Pharmacol*. 2010;62(7):924-930.
110. Lu HR, Yu F, Dai DZ, Remeysen P ve ark. Reduction in QT dispersion and ventricular arrhythmias by ischaemic preconditioning in anaesthetized, normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 1999;13(4):445-454.
111. Horinaka S, Kobayashi N, Higashi T, Hara K ve ark. Nicorandil enhances cardiac endothelial nitric oxide synthase expression via activation of adenosine triphosphate-sensitive K channel in rat. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;38(2):200-210.
112. Cecen E, Dost T, Culhaci N, Karul A ve ark. Protective effects of silymarin against doxorubicin-induced toxicity. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12(10):2697-2704.
113. Micili SC, Goker A, Sayin O, Akokay P ve ark. The effect of lipoic acid on wound healing in a full thickness uterine injury model in rats. *J Mol Histol*. 2013;44(3):339-345.
114. Pacher P, Bagi Z, Lakó-Futó Z, Ungvári Z ve ark. Cardiac electrophysiological effects of citalopram in guinea pig papillary muscle comparison with clomipramine. *Gen Pharmacol*. 2000;34(1):17-23.
115. Yang Z, Shi G, Li C, Wang H ve ark. Electrophysiologic effects of nicorandil on the guinea pig long QT1 syndrome model. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2004;15(7):815-820.

116. Takahashi N, Ito M, Saikawa T, Arita M. Nicorandil suppresses early afterdepolarisation and ventricular arrhythmias induced by caesium chloride in rabbits in vivo. *Cardiovasc Res*. 1991;25(6):445-452.
117. Watanabe I, Okumura Y, Ohkubo K, Nagashima K ve ark. Effect of the ATP-sensitive K^+ channel opener nicorandil in a canine model of proarrhythmia. *Int Heart J*. 2011;52(5):318-322.
118. Komori S, Ishii M, Hashimoto K. Antiarrhythmic effects of coronary vasodilators on canine ventricular arrhythmia models. *Jpn J Pharmacol*. 1985;38(1):73-82.
119. Ishizaka T, Yoshimatsu Y, Maeda Y, Chiba K ve ark. Inotropic Effects of Nicorandil on Cardiac Contractility Assessed by Left Ventricular Pressure-Volume Relationship Analyses in Anesthetized Monkeys. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2018;71(2):76-81.
120. Eken, A. Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*. 2017;160-169.
121. Ahmadian E, Eftekhari A, Fard JK, Babaei H ve ark. In vitro and in vivo evaluation of the mechanisms of citalopram-induced hepatotoxicity. *Arch Pharm Res*. 2017;40(11):1296-1313.
122. Ilgin S, Kilic G, Baysal M, Kilic V ve ark. Citalopram Induces Reproductive Toxicity in Male Rats. *Birth Defects Res*. 2017;109(7):475-485.
123. Atmaca M, Tezcan E, Kuloglu M, Ustundag B ve ark. Antioxidant enzyme and malondialdehyde values in social phobia before and after citalopram treatment. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2004;254(4):231-235.
124. Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A ve ark. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep*. 2003;8(6):365-370.
125. Xia Z, Bergstrand A, DePierre JW, Nässberger L. The antidepressants imipramine, clomipramine, and citalopram induce apoptosis in human acute myeloid leukemia HL-60 cells via caspase-3 activation. *J Biochem Mol Toxicol*. 1999;13(6):338-347.
126. Xia Z, Depierre JW, Nässberger L. The tricyclic antidepressants clomipramine and citalopram induce apoptosis in cultured human lymphocytes. *J Pharm Pharmacol*. 1996;48(1):115-116.
127. Xia Z, Karlsson H, DePierre JW, Nässberger L. Tricyclic antidepressants induce apoptosis in human T lymphocytes. *Int J Immunopharmacol*. 1997;19(11-12):645-654.

128. Tan Y, Duan J, Li Y, Cai W. Effects of citalopram on serum deprivation induced PC12 cell apoptosis and BDNF expression. *Pharmazie*. 2010;65(11):845-848.
129. Asensio-López MC, Soler F, Pascual-Figal D, Fernández-Belda F ve ark. Doxorubicin-induced oxidative stress: The protective effect of nicorandil on HL-1 cardiomyocytes. *PLoS One*. 2017;12(2):e0172803.
130. Zhang M, Zhang H, Liu C, Li X ve ark. Myocardial Protective Effects of Nicorandil on Rats with Type 2 Diabetic Cardiomyopathy. *Med Sci Monit Basic Res*. 2018;24:141-145.
131. Ahmed LA, El-Maraghy SA. Nicorandil ameliorates mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced heart failure in rats: possible mechanism of cardioprotection. *Biochem Pharmacol*. 2013;86(9):1301-1310.
132. Wang A, Chen F, Xie Y, Guo Z ve ark. Protective mechanism of nicorandil on rat myocardial ischemia-reperfusion. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2012;13(8):511-515.
133. Refaie MMM, Shehata S, El-Hussieny M, Abdelraheem WM ve ark. Role of ATP-Sensitive Potassium Channel (KATP) and eNOS in Mediating the Protective Effect of Nicorandil in Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol*. 2020;20(1):71-81.
134. Su Q, Li L, Zhao J, Sun Y ve ark. Effects of nicorandil on PI3K/Akt signaling pathway and its anti-apoptotic mechanisms in coronary microembolization in rats. *Oncotarget*. 2017;8(59):99347-99358.
135. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B ve ark. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation*. 2000;101(4):439-445.