

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

**İZOLE SIÇAN AORTUNDA AMİTRİPTİLİNE  
BAĞLI GELİŞEN VAZODİLATASYONDA  
2-HİDROKSİPROPİL-BETA-SİKLODEKSTRİNİN  
ETKİSİ**

**DR. AYŞE PELİN KURTOĞLU**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2019**

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

**İZOLE SIÇAN AORTUNDA AMİTRİPTİLİNE  
BAĞLI GELİŞEN VAZODİLATASYONDA  
2-HİDROKSİPROPİL-BETA-SİKLODEKSTRİNİN  
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. AYŞE PELİN KURTOĞLU**

**Danışman Öğretim Üyesi: Doç. Dr. Nil HOCAOĞLU AKSAY**

## İÇİNDEKİLER

<b>I.</b>	Tablo, Şekil, Resim ve Grafik Dizinler.....	<b>i</b>
<b>II.</b>	Kısaltmalar .....	<b>iii</b>
<b>III.</b>	Özet .....	<b>1</b>
<b>IV.</b>	Summary (İngilizce Özet) .....	<b>2</b>
<b>V.</b>	Giriş ve Amaç .....	<b>3</b>
<b>VI.</b>	Genel Bilgiler .....	<b>5</b>
<b>VIA.</b>	Trisiklik Antidepresanlar .....	<b>5</b>
<b>VIB.</b>	Amitriptilin .....	<b>6</b>
<b>VIC.</b>	Siklodekstrinler ve 2-Hidroksipropil-Beta-Siklodekstrin (2-HPBCD) .....	<b>16</b>
<b>VII.</b>	Gereçler ve Yöntem .....	<b>21</b>
<b>VIIA.</b>	Araştırmanın tipi .....	<b>21</b>
<b>VII B.</b>	Araştırmanın yöntemi .....	<b>21</b>
<b>VII C.</b>	Dokuların hazırlanması .....	<b>21</b>
<b>VII D.</b>	Verilerin kaydı .....	<b>22</b>
<b>VII E.</b>	Deneyde kullanılan ilaçlar ve çözeltiler .....	<b>23</b>
<b>VII F.</b>	Deney protokolleri .....	<b>24</b>
<b>VII G.</b>	İstatistiksel analiz .....	<b>26</b>
<b>VIII.</b>	Bulgular .....	<b>27</b>
<b>VIIIA.</b>	Ön Çalışma: 2-HPBCD'in tek başına damar üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi .....	<b>28</b>
<b>VIIIB.</b>	Deney Grupları: Amitriptilin Zehirlenmesi Modelinde 2-HPBCD Farklı Dozlarının Damar Cevabı Üzerine Etkileri .....	<b>29</b>
<b>IX.</b>	Tartışma .....	<b>37</b>
<b>X.</b>	Sonuç .....	<b>45</b>
<b>XI.</b>	Kaynaklar .....	<b>46</b>

## **I. TABLO, ŞEKİL, RESİM ve GRAFİK DİZİNLERİ**

### **IA. Tablo Dizini:**

- Tablo 1.** Yapılarına göre trisiklik antidepresanlar ve benzerleri
- Tablo 2.** Ön çalışma ve deney protokolleri
- Tablo 3.** Ön çalışma ve deney gruplarının vücut ağırlıkları
- Tablo 4.** Ön çalışma ve deney grubu aort dokularının başlangıç değerleri
- Tablo 5.** Amitriptilinin tek başına etkisinin değerlendirilmesi
- Tablo 6.** Amitriptilin ile 1:1 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi
- Tablo 7.** Amitriptilin ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi
- Tablo 8.** Amitriptilin ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi

### **IB. Şekil Dizini:**

- Şekil 1.** Amitriptilinin kimyasal yapısı
- Şekil 2.**  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin vasküler kasılma cevabı üzerine etkileri
- Şekil 3.** Adenozin  $A_{2a}$  aracılı vazodilatasyon oluşum mekanizması
- Şekil 4.** Endotel aracılı NO sentezi ve vasküler düz kasta gevşeme cevabı oluşması
- Şekil 5.** Endotelinin damar düz kas kasılma cevabı ve NO salımı üzerine etkileri
- Şekil 6.**  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  siklodekstrinlerin moleküler yapısı
- Şekil 7.** İlaç molekülü ve siklodekstrin bağlanması
- Şekil 8.** Amitriptilin ve  $\beta$ -siklodekstrin ilişkisi
- Şekil 9.** 2-HPBCD moleküler yapısı
- Şekil 10.** Ön çalışma ve deney protokolleri
- Şekil 11.** Endotel canlılığı değerlendirilmesi - trase örneği
- Şekil 12.** Ön çalışma grubu dokularına tek başına 2-HPBCD'nin etkisinin değerlendirildiği trase örneği
- Şekil 13.** Amitriptilin inkübasyonunun norepinefin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

**Şekil 14.** Amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

**Şekil 15.** Amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

**Şekil 16.** Amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

### **IC. Resim Dizini:**

**Resim 1.** Dokuların hazırlanması

**Resim 2.** Dokuların izole organ banyosu sistemine asılması ve verilerin transducer aracılığı ile kaydı

### **ID. Grafik Dizini:**

**Grafik 1.** Amitriptilin inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği

**Grafik 2.** Amitriptilin ile 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği

**Grafik 3.** Amitriptilin ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği

**Grafik 4.** Amitriptilin ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği

**Grafik 5.** Farklı dozlarda 2-HPBCD uygulamalarının amitriptiline bağlı oluşan inhibisyona etkisi – gruplararası karşılaştırma

## II. KISALTMALAR

**TSA:** Trisiklik antidepresanlar

**AAPCC NPDS:** Amerika Ulusal Zehir Danışma Merkezi

**DEÜ ZDM:** Dokuz Eylül Üniversitesi Zehir Danışma Merkezi

**SSS:** Santral sinir sistemi

**KVS:** Kardiyovasküler sistem

**ECMO:** Ekstrakorporeal membran oksijenasyonu

**2-HPBCD:** 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin

**SSRI:** Selektif serotonin geri alım inhibitörleri

**SERT:** Serotonin geri alım taşıyıcısı

**NET:** Noradrenalin geri alım taşıyıcısı

**SA:** Sinoatriyal

**AV:** Atriyoventriküler

**I<sub>NA</sub>:** Hızlı sodyum kanalları

**NO:** Nitrik oksit

**IP<sub>3</sub>:** İnozitol-3-fosfat

**DAG:** Diaçil gliserol

**K<sup>+</sup>:** Potasyum

**S1P:** Sfingozin-1-fosfat

**eNOS:** endotelial nitrik oksit sentaz

**VEGF:** vasküler endotelial büyüme faktörü

**EKG:** Elektrokardiyografi

**TCA-Fab:** Trisiklik antidepresan antikorları

**FDA:** Amerika Gıda ve İlaç Dairesi

**PDGF-BB:** Platelet derive vasküler büyüme faktörü

**TGF-  $\beta$ 1:** Tümör büyüme faktörü

**bFGF:** Fibroblast büyüme faktörü

**KHB:** Krebs-Henseleit Bikarbonat

**KCl:** Potasyum klorür

**ACh:** Asetilkolin

**NE:** Norepinefrin

**K<sub>a</sub>:** Bağlanma affinitesi

**SBE-CD:** Sülfobütileter- $\beta$ -siklodekstrin



### III. ÖZET

Çalışmamızda *in vitro* sıçan aortunda amitriptilinin oluşturduğu vazodilatasyon üzerine; amitriptiline orta-yüksek affinite ve 1:1 seçicilik ile bağlanan 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrinin (2-HPBCD) etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Deneyleerde vücut ağırlığı ortalama  $345.1 \pm 17.0$  g olan 19 adet Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlardan alınan torakal aorta dokuları *in vitro* organ banyosu sistemine asıldı ve dokuların kasılma cevapları kaydedildi. Deney başlangıcında dokuların endotel canlılıkları değerlendirildi. Potasyum klorürle (KCl, 100 mM) kasılma cevabı (ortalama  $1646.0 \pm 389.2$  mg) ve sonrasında asetilkolinle (ACh,  $10^{-5}$  M) gevşeme cevabı (ortalama  $\%46.8 \pm 6.4$ ) elde edilen dokular çalışmaya dâhil edildi.

Çalışmamızda öncelikle yüksek doz (1:20 molar oranda) 2-HPBCD molekülünün tek başına vasküler kasılma cevabı üzerine etkisi olup olmadığı değerlendirildi (Grup 1). Daha sonra deney gruplarına tek başına amitriptilin ( $1.8 \times 10^{-5}$  M) veya sırasıyla Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te amitriptilin ile birlikte 1:1, 1:4, 1:20 molar oranda 2-HPBCD eklenerek vasküler kasılma cevapları üzerine etkisi olup olmadığı değerlendirildi. Kasılma cevapları norepinefrin (NE,  $10^{-5}$  M) ile elde edildi ve karşılaştırıldı.

Tek başına yüksek doz (1:20 molar oranda) 2-HPBCD uygulamasının kasılma cevabı üzerine etki oluşturmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Tek başına amitriptilinin ( $1.8 \times 10^{-5}$  M) NE'ne bağlı kasılma cevabında  $\% 45.3 \pm 5.6$  oranında azalma oluşturduğu saptandı. Amitriptilin ile birlikte 1:1 ve 1:4 molar oranda 2-HPBCD inkübasyonu ile elde edilen NE kasılma cevaplarının, tek başına amitriptilin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Amitriptilinin ile birlikte 1:20 molar oranda 2-HPBCD inkübasyonunun ise amitriptiline bağlı NE kasılma cevabında meydana gelen inhibisyonu azalttığı bulundu ( $p < 0.05$ ). Sonuç olarak yüksek dozda (1:20 molar oranda) 2-HPBCD, amitriptilin ile oluşan vazodilatasyon cevabını önlemede etkili olmuştur.

**Anahtar kelimeler:** *In vitro*, amitriptilin, hipotansiyon, vazodilatasyon, 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin



#### IV. SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (2-HPBCD), which bound to amitriptyline with moderate-high affinity and 1: 1 selectivity, on amitriptyline induced vasodilatation.

Nineteen male Wistar rats ( $345.1 \pm 17.0$  g) were used in the experiments. Thoracic aorta tissues from rats were suspended in rings in an *in vitro* organ bath system and vascular contraction responses of the tissues were recorded. At the beginning of the experiment, endothelial viability of the tissues were evaluated. Tissues with contraction response with potassium chloride (100 mM KCl, mean  $1646.0 \pm 389.2$  mg) followed by relaxation with acetylcholine ( $10^{-5}$  M ACh,  $46.8 \pm 6.4\%$ ) were included in the study.

In our study, firstly, it was evaluated whether high dose (1:20 molar ratio) 2-HPBCD alone had an effect on vascular contractile response (Group 1). Then, on the vascular contraction responses by adding amitriptyline ( $1.8 \times 10^{-5}$  M) alone or amitriptyline 1:1, 1:4, 1:20 molar ratio together with amitriptyline in Group 2, Group 3 and Group 4 respectively. Contractile responses were obtained with norepinephrine ( $10^{-5}$  M NE) and then were compared each other.

High dose alone (1:20 molar ratio) 2-HPBCD administration did not affect the contractile response ( $p > 0.05$ ). Amitriptyline alone ( $1.8 \times 10^{-5}$  M) treated group showed a  $45.3 \pm 5.6\%$  reduction in contractile response. There was no statistically significant difference between the norepinephrine contractile responses obtained by 2-HPBCD incubation at 1:1 and 1:4 molar ratio with amitriptyline compared to the group treated with amitriptyline alone ( $p > 0.05$ ). Incubation of 2-HPBCD in a 1:20 molar ratio with amitriptyline was found to reduce the inhibition of amitriptyline-induced norepinephrine contractile response ( $p < 0.05$ ). In conclusion, high-dose 2-HPBCD was effective in preventing vasodilatation response with amitriptyline.

**Keywords:** In vitro, amitriptyline, hypotension, vasodilatation, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

## V. GİRİŞ VE AMAC

Trisiklik antidepresanlar (TSA), yan etkileri nedeniyle yıllar içinde kullanımları sınırlandırılmakla birlikte halen pek çok psikiyatrik ve nörolojik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. TSA'ların yüksek doz maruz kalımları, hastaneye yatış gerektiren ve hayatı tehdit edebilen zehirlenmelerdir.<sup>(1)</sup> Amerika Ulusal Zehir Danışma Merkezi (AAPCC NPDS) 2017 yılı verilerine göre antidepresanlar 20 yaş ve üzeri hastalarda en sık zehirlenme etkenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Antidepresanlar içinde TSA ile zehirlenmeler dördüncü sıradadır ve amitriptilin tek başına en sık zehirlenmeye neden olan ilk 10 antidepresan içerisinde yer almaktadır. Ayrıca, TSA'lar ölümlü sonuçlanan zehirlenmelerde de ilk 15 etken içerisinde yer almaktadır.<sup>(2)</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi Zehir Danışma Merkezi'nde (DEÜ ZDM) yapılan yıllık değerlendirmelerin verilerine göre, 2015-2016 yıllarında bildirilen antidepresan zehirlenmeleri arasında TSA'ların üçüncü sırada yer aldığı belirtilmektedir.<sup>(3)</sup>

TSA zehirlenmelerinde antikolinergik bulgular (ağız kuruluğu, taşikardi, üriner retansiyon, bağırsak seslerinde azalma, deliryum), nöbet, ventriküler disritmiler ve hipotansiyon gibi bulgular görülebilmektedir. Özellikle santral sinir sistemi (SSS) ve kardiyovasküler sistem (KVS) üzerine toksik etkileri ölümcül ve tedaviye dirençli seyredebilmektedir.<sup>(4)</sup>

Hipotansiyon, TSA tedavi dozunda kullanımında ya da zehirlenmelerinde oldukça sık görülen bir bulgudur. Hipotansiyon oluşumunda TSA'nın; kinidin benzeri etki ile faz 0 sodyum kanal blokajına bağlı miyokard disfonksiyonu;  $\alpha$ -adrenerjik reseptör blokajına bağlı direkt vazodilatasyon, norepinefrin ve dopamin gibi biyolojik aminlerin sinaptik aralıkta geri alınımının inhibisyonu sonucu tüketilmesi,<sup>(1,5)</sup> anjiogenez inhibisyonu,<sup>(6)</sup> adenozin reseptör aktivasyonu<sup>(7)</sup> gibi etkilerinin sorumlu olabileceği bildirilmektedir.

TSA zehirlenmesine bağlı hipotansiyonun tedavisinde sırasıyla; intravenöz sıvı replasmanı, sodyum bikarbonat, vazopressör ve inotrop ajanlar, standart tedaviye yanıt alınmadığı takdirde glukagon, ekstrakorporeal membran oksijenasyonu (ECMO) ve intralipit tedavisi önerilmektedir. Ancak bu tedavilerin yararlılığına ilişkin verilerin kanıt düzeyi yeterli değildir. TSA zehirlenmelerinde hemodiyaliz ve hemoperfüzyon gibi eliminasyonu arttırıcı yöntemler önerilmemektedir. Özgül antidot tedavisi mevcut olmayıp, geliştirme çalışmaları devam etmektedir.<sup>(4, 8, 9)</sup>

Siklodekstrinler ve onun hidroksialkil derivesi olan 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin (2-HPBCD); α-1-4 bağları ile bağlı glukoz oligomerlerinden oluşan amiloz benzeri siklik yapıda maddelerdir. Bu kimyasal yapı sayesinde koni benzeri şekilleriyle hidrofilik bir ilaç taşıyıcı molekül olarak farmakolojide kullanım alanı bulmaktadırlar. Siklodekstrinlerin; bağlandığı ilaçların farmakokinetiği ve farmakodinamiğini değiştirdiğine dair çalışmalar bulunmaktadır.<sup>(10)</sup> Bunlardan en iyi bilineni; sekiz glukoz ünitesinden oluşan yani γ-siklodekstrinin bir derivesi olan sugammadaksin; roküronyuma çok yüksek affinite ( $K_a=1.8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) ve seçicilikle (1:1) bağlanmasıdır.<sup>(11)</sup> Roküronyumun anestezi sonrası uzayan etkisini sonlandırmak amacıyla siklodekstrinlerin kullanılması, toksikolojide yeni bir antidot olarak da araştırılmalarını sağlamıştır. Ek olarak anjiogenezi artırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır.<sup>(12)</sup> Bu nedenle, TSA'larla ve özellikle amitriptiline 1:1 molar oranında ve orta-yüksek affinite ( $1500-3200 \text{ M}^{-1}$ ) ile bağlandığı gösterilen β-siklodekstrinler, amitriptiline bağlı gelişen hipotansiyon tedavisinde kullanılabileceği düşünülerek araştırmamızın konusu olmuştur.<sup>(13)</sup>

Siklodekstrinlerin toksikolojik etkilerinin değerlendirildiği çalışmalarda, β-siklodekstrinin hemoliz, apoptotik hücre ölümü ve geri dönüşsüz böbrek hasarına neden olabildiği gösterilmiştir. Hayvan çalışmalarında 2-HPBCD'nin ise yüksek dozlarda intravenöz (i.v.) kullanımda akciğer, böbrek ve dalakta, oral kullanımda ise karaciğerde hafif toksik etkilere neden olduğu ve bu etkilerin geri dönüşlü olduğu gösterilmiştir. İnsanlardaki 2-HPBCD çalışmalarında ise ciddi advers etki bildirilmemiştir.<sup>(14)</sup> Bölümümüzde daha önce yapılan bir tez çalışmasında, 2-HPBCD'nin 4.19 mg/kg/dk (düşük doz) ve 16.76 mg/kg/dk (yüksek doz) infüzyon dozlarında amitriptilin zehirlenmesine bağlı kardiyak bulgular üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir. Çalışmada, 2-HPBCD'e bağlı toksisite bulgusu gözlenmediği rapor edilmektedir.<sup>(14)</sup>

Bu projenin amacı, bir siklodekstrin olan ve kalıcı istenmeyen etkileri bulunmayan 2-hidroksipropil-β-siklodekstrinin (2-HPBCD), izole sıçan aortunda amitriptiline bağlı vazodilatasyon üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

## VI. GENEL BİLGİLER

### VIA. TRİSİKLIK ANTİDEPRESANLAR

Trisiklik antidepresan (TSA) ilaçların ilki olan imipramin 1956 yılında Dr. Roland Kuhn tarafından geliştirilmiş ve 1959'da piyasaya sürülmüştür. Depresyonun patofizyolojisi aydınlatılmaya başlandıktan ve monoamin hipotezi ortaya atıldıktan sonra 1961 yılında imipramine benzer yapıda olan amitriptilin ve arkasından diğer TSA'lar da hızla piyasaya sürülmeye başlamıştır.<sup>(16, 17)</sup>

Pek çok sınıflama olmakla birlikte siklik yapıdaki antidepresanlar kimyasal yapılarına göre; “tersiyer aminli trisiklikler” ve “sekonder aminli trisiklikler” ile bu gruplara dâhil edilemeyen “tetrasiklik” ve “unisiklik” yapıda antidepresanlar olarak gruplara ayrılabilir. Amitriptilin, imipramin, klomipramin, doksepin ve trimipramin; tersiyer amin yapısındadırlar. Desimipramin, nortriptilin ve protriptilin sekonder amin yapısında iken, amoksapin, maprotilin, mirtazapin, vilazodon tetrasiklik; buprapion ise unisiklik yapıdadırlar (Tablo 1).<sup>(18, 19)</sup>

**Tablo 1.** Yapılarına göre trisiklik antidepresanlar ve benzerleri

<b>Trisiklik antidepresanlar</b>	
<i>Tersiyer aminli trisiklikler</i>	Amitriptilin, imipramin, klomipramin, doksepin, trimipramin
<i>Sekonder aminli trisiklikler</i>	Desimipramin, nortriptilin, protriptilin
<b>Tetrasiklik antidepresanlar</b>	Amoksapin, maprotilin, mirtazapin, vilazodon
<b>Unisiklik antidepresanlar</b>	Buprapion

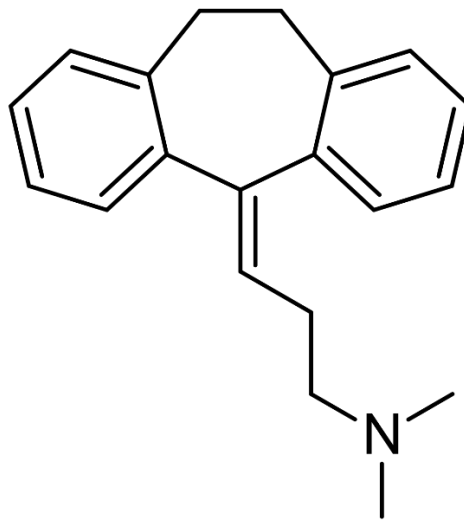
Günümüzde majör depresyonun tedavisi için ilk sırada selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) tercih edilmekle birlikte, TSA'lar standart tedaviye yanıt vermeyen majör depresyonda, migren profilaksisinde, nöropatik ağrı tedavisinde, obsesif-kompulsif bozukluk tedavisinde ve çocuklarda nokturnal enürezis tedavisinde kullanılmaktadırlar.<sup>(1)</sup>

TSA yüksek doz alımları, çoğunlukla kronik ağrı ve nöropsikiyatrik hastalıkların tedavisi amacıyla kullanan hastalarda görülmektedir. TSA'lara bağlı zehirlenme olguları zaman içinde sayıca azalmakla birlikte hastaneye yatış ve ölüm oranları halen artma eğilimindedir.<sup>(1)</sup> Amerika Ulusal Zehir Danışma Merkezi (AAPCC NPDS) 2017 yılı verilerine göre antidepresanlar 20 yaş ve üzeri hastalarda en sık karşılaşılan zehirlenme etkenleri arasında üçüncü sırada yer almaktadır. Antidepresanlar içinde TSA ile zehirlenmeler dördüncü sırada, amitriptilin tek başına en sık zehirlenmeye neden olan ilk 10 antidepresan arasında yer almaktadır. Ayrıca, TSA'lar ölümlü sonuçlanan zehirlenmelerde de ilk 15 etken içerisinde yer almaktadır.<sup>(2)</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi Zehir Danışma Merkezi'nde (DEÜZDM) yapılan yıllık değerlendirmelerin verilerine göre, 2015-2016 yılları arasında bildirilen antidepresan zehirlenmeleri arasında TSA'ların üçüncü sırada yer aldığı belirtilmektedir.<sup>(3)</sup>

## VIB. AMİTRİPTİLİN

### i. Kimyasal özellikleri

Amitriptilin yapısında üç halka çekirdeğine bağlı bir tersiyer amin yan zinciri içerir (Şekil 1).<sup>(20)</sup> Kimyasal formülasyonu " $C_{20}H_{23}N$ " şeklindedir. Molekül ağırlığı 277.411 g/mol'dür. Oda sıcaklığında suda çözünürlüğü 9.71 mg/L'dir. Oktanol/su partiyon katsayısı 4.92 (logP) olup lipofilik özelliktedir. Zayıf bazik yapıdadır ( $pK_a=9.4$ ).<sup>(20)</sup>



Şekil 1. Amitriptilinin kimyasal yapısı

### ii. Farmakokinetik özellikleri

**Emilim:** Gastrointestinal kanaldan tama yakın emilir. Biyoyararlanımı %30-60 arasındadır. Yüksek oranda ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Enterohepatik dolaşıma girer.

**Dağılım:** Plazma doruk konsantrasyona oral ya da intramusküler uygulama sonrası 2-12 saatte ulaşır. Proteine bağlanma oranı yaklaşık %95'tir. Sanal dağılım hacmi  $16.0 \pm 3.0$  L/kg'dır. Postmortem araştırmalarda plazma konsantrasyonuna oranla, beyinde 40 kat, karaciğerde 30 kat ve miyokard hücrelerinde 5 kat daha yüksek konsantrasyonda olduğu gösterilmiştir. Plasenta ve anne sütüne geçişi vardır.

**Metabolizma:** Karaciğerde demetilasyon (CYP2C19, CYP3A4) ve hidroksilasyon (CYP2D6) (faz 1) sonrası, glukuronik asitle konjugasyonu (faz 2) sonucu metabolize olur. Metabolizmasında CYP1A2 ve CYP2C9 enzimleri de yer alır. Metabolizması, genetik polimorfizm nedeniyle kişiler arasında farklılık gösterebilmektedir. Amitriptilin demetilasyon sonrası oluşan sekonder amin yapısındaki aktif metaboliti "nortriptilin"dir. Plazmada aktivitesi nortriptiline göre az olan cis- ve trans-10-hidroksiamitriptilin, cis- ve trans-10-hidroksinortriptilin metabolitleri ile ihmal edilebilir düzeyde ve inaktif olan demetiltortriptilin ve amitriptilin-N-oksit metabolitleri de bulunmaktadır.

**Atılım:** Yarı ömrü ortalama 25 saat olup, sistemik klerensi ortalama  $39.2 \pm 10.2$  L/saattir. Amitriptilin ve metabolitleri başlıca böbreklerden atılmaktadır. Böbreklerden atılan kısmın yalnızca %2'si değişmeden atılan ilaçtır. İdrarın asidikleştirilmesi ile amitriptilin ve nortriptilin idrara geçişi 1000 kat artırılabilir. Küçük bir miktarda biliyer salgılanma sonucu feçese itrahi da vardır.<sup>(20-24)</sup>

### iii. Farmakodinamik özellikleri

Fenotiazinlere benzer yapısı nedeniyle farmakodinamik etkileri de bu ilaçlara benzerlik göstermektedir. Terapötik etkisini presinaptik noradrenalin, dopamin ve serotonin gibi biyolojik aminlerin geri alımını inhibe etmesi sonucu, sinaptik aralıkta nörotransmitter miktarında artış sağlayarak gösterir. Amitriptilin, serotonin geri alım taşıyıcısı (SERT) ve noradrenalin geri alım taşıyıcısı (NET) üzerine benzer afinite gösterirken, metaboliti nortriptilin NET üzerine daha seçici etki gösterir. Ayrıca, TSA'ların periferel  $\alpha$ -adrenerjik, histaminik, muskarinik ve santral 5-HT<sub>2</sub> reseptörleri üzerine antagonist etkileri ile miyokard üzerine hücre

membranını stabilize edici etkisi de bulunmaktadır. Bu etkileri çoğunlukla istenmeyen veya toksik bulguların oluşum mekanizmalarında yer alır.<sup>(1, 20, 25)</sup>

#### *iv. Amitriptiline bağlı zehirlenmeler*

Amitriptilin ile tedavide, erişkin hastalarda günlük 75 mg ile başlanması, cevap alınan en düşük doz ile devam edilmesi tercih edilmektedir. Günlük olarak maksimum 150-300 mg kullanılabilir. Amitriptilin akut 5 mg/kg üzeri dozlarda alımıyla toksik etkiler görülmeye başlamakta, 10-20 mg/kg alımında ise ciddi toksisite bulguları gözlenebilmektedir. Çocuklarda 250 mg miktarında alımında bile ölüm görülebilmektedir.

Amitriptilin zehirlenmesinde ortaya çıkan bulgular; santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi ve kardiyovasküler sistem bulguları olarak gruplanır.

1. Santral sinir sistemi etkileri: Biyolojik aminlerin geri alımını inhibe etmesi nedeniyle serotonin sendromu veya malign nöroleptik sendroma neden olabilmektedir. GABA<sub>A</sub> reseptör blokajı sonucu nöbet oluşumu tetiklenebilir. Antikolinergik reseptör blokajı etkisi ile deliryum, ajitasyon ve halüsinasyon gibi mental durum değişikliklerine neden olabilir. Histamin reseptör blokajı sonucu sedasyon ve koma ortaya çıkabilir. Solunum sistemi üzerine etkileri, santral sinir sistemindeki baskılanmaya sekonder ya da amitriptilin primer etkilerine bağlı görülebilmektedir.

2. Periferik sinir sistemi etkileri: Antikolinergik etkilerine bağlı sinüs taşikardisi, hipertermi, cilt ve mukoza kuruluğu, bağırsak seslerinde azalma ve idrar retansiyonu oluşabilmektedir.

3. Kardiyovasküler sistem etkileri: En sık görülen kardiyovasküler sistem bulguları hipotansiyon ve aritmilerdir.

TSA'ların toksik etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli kardiyak aritmiler oluşabilmektedir. Antikolinergik etkiye bağlı sinüs taşikardisi, membran stabilize edici etkiye bağlı QRS uzaması, kontraktilitede azalma ve asistoli, ileti bozukluklarına bağlı PR uzaması, AV blok, sağ aks pateni, ventriküler taşiaritmiler, potasyum kanal blokajına bağlı QT uzaması ve Torsades de Pointes gibi ciddi ritim bozuklukları görülebilmektedir. TSA zehirlenmelerinde sıkça görülen bir bulgu olan metabolik asidoz gelişimi ise faz 0 sodyum kanal blokajını artırarak kardiyak bulguların daha da kötüleşmesine neden olabilmektedir.<sup>(1, 24)</sup>

Hipotansiyon, amitriptilin zehirlenmesinde sık görülen, tedaviye dirençli olabilen ve hayatı tehdit edebilen bir bulgudur.

v. *Amitriptiline bağlı gelişen hipotansiyon mekanizmaları:*

Sistemik vasküler basınç; ortalama arteriyel basınç ve santral venöz basınç ile doğru, kardiyak output ile ters orantılı olarak değişir.

$$\text{Sistemik vasküler direnç} = (\text{Ortalama arteriyel basınç} - \text{Santral venöz basınç}) / \text{Kardiyak output}$$

Kalpatrium, sinoatriyal (SA) nod ve atriyoventriküler (AV) nod üzerine parasempatik sistem innervasyonu ve muskarinik reseptör dağılımı hâkim iken, ventrikül ve Purkinje ileti sistemi üzerinde sempatik sistem innervasyonu ve adrenerjik  $\beta$  reseptör dağılımı hâkimdir. Her iki sistem normal koşullarda denge halinde çalışırlar. Amitriptilin toksik dozda alımı, presinaptik noradrenalin depolarının deşarjına neden olmaktadır. Bu etki ilacın antikolinergik etkisi ile birlikte kısa süreli bir taşikardi ve hipertansiyon görülmesine neden olabilmektedir. Ancak, sonrasında boşalan noradrenalin depoları nedeniyle noradrenalin miktarı yetersiz kalmakta ve miyokard üzerine sempatik sistemin oluşturduğu pozitif inotrop, kronotrop, dromotrop ve lusitrop etkiler ortadan kalkmaktadır. Kalbin kasılma gücü ve kalp atım sayısındaki azalma, kardiyak outputun azalmasıyla sonuçlanmaktadır.<sup>(1, 5-7, 26-30)</sup>

Amitriptilin miyokard üzerine bir diğer etkisi, faz 0 hızlı sodyum kanallarının blokajı ile ortaya çıkmaktadır. Faz 0 hızlı sodyum kanal blokajı, amitriptilin kinidin benzeri membran stabilize edici etkisi ile oluşmaktadır. Hızlı sodyum kanalları ( $I_{Na}$ ), miyokarda gelen uyarı sonucu hücre içine sodyum akımını başlatarak depolarizasyonu sağlarlar. Kanalın bloke edilmesi ile miyokard hücrelerinin depolarizasyonu yavaşlar. EKG’de QRS uzaması gözlenir. Kardiyak kontraktile ve sonuç olarak kardiyak output azalır.<sup>(1, 5-7, 26-30)</sup>

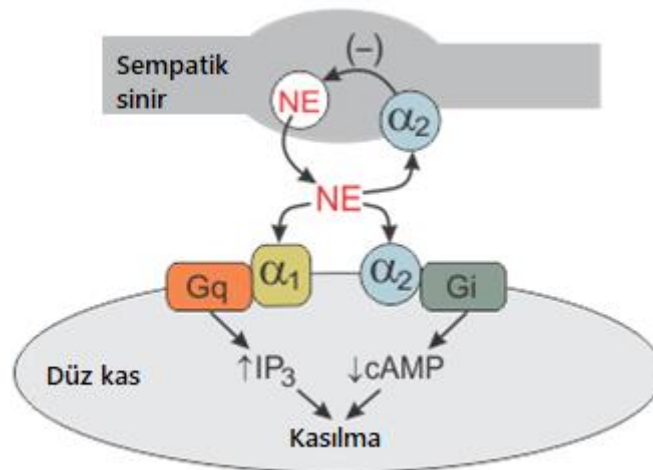
Amitriptilin hipotansiyon oluşumunda kardiyak etkilerinin yanında vasküler direkt etkilerinin de rolü vardır.

Sistemik vasküler direnç, lokal ve sistemik düzenleyici yollar tarafından belirlenmektedir. Parasempatik sinir sisteminin vasküler yatakta innervasyonu bulunmamaktadır. Ancak muskarinik reseptörler ve diğer lokal yolların düzenlenmesinde rol



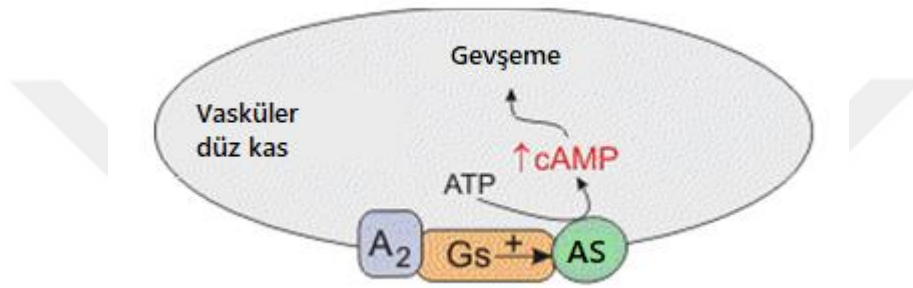
oynamaktadır. Sempatik sinir sisteminin ise vasküler yatakta hem arterioller hem de venüller üzerinde innervasyonu bulunmaktadır. Adrenerjik  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  ve  $\beta_2$  reseptörlerin yanında dopaminerjik reseptörler, anjiyotensin ve adenozin reseptörleri ile endotel aracılı nitrik oksit (NO) artışı da vasküler cevabın oluşmasında rol oynamaktadır. Bu reseptörlerin organlardaki dağılımlarına ve postreseptör olayların farklılığına göre dokudaki vasküler etkileri değişken olmakla birlikte, sistemik vasküler direncin belirlenmesinde en önemli rol  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörlere aittir. (1, 5-7, 26-30)

*Adrenerjik reseptörlere bağlı oluşan vazodilatasyon cevabı:*  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörler  $G_q$  ile kenetlidirler ve uyarılmaları sonucu fosfolipaz-C aktivasyonu ile inozitol-3-fosfat ( $IP_3$ ) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur.  $IP_3$  ve DAG aracılı hücre içi kalsiyum artışı ile kasılma cevabı meydana gelir. Daha az sıklıkta ise  $G_i$  ile kenetli postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu sonucu adenilat siklaz aktivitesi ve cAMP düzeyi azalır, miyozin hafif zincir kinaz üzerindeki inhibisyon ortadan kalkarak kasılma cevabı oluşur. Bu kasıcı etkiler arteriyoller üzerinde venüllere göre daha baskındır. Her iki reseptör de postsinaptik norepinefrin ile uyarılmaktadırlar. Amitriptiline bağlı direkt  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokajı ve indirekt presinaptik norepinefrinin tükenmesi sonucu vasküler kasılma cevabı azalır. Sonuç olarak sistemik vasküler dirençte azalma ve hipotansiyon meydana gelir (Şekil 2). Amitriptiline bağlı gelişen hipotansiyon mekanizmaları arasında en büyük rolün  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör blokajına bağlı olduğu düşünülmektedir. (1, 5-7, 26-31)



**Şekil 2.**  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin vasküler kasılma cevabı üzerine etkileri. (31)

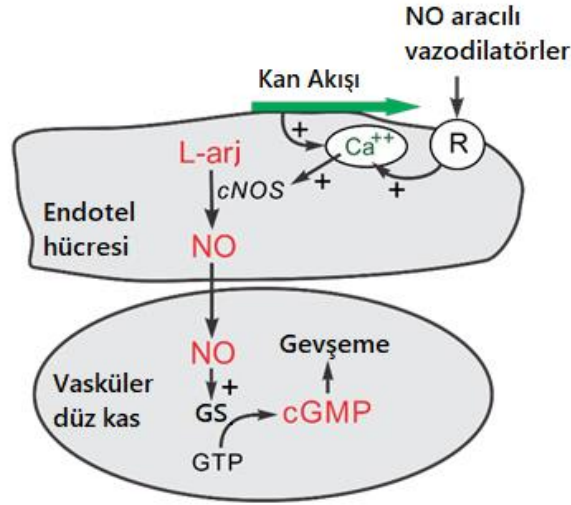
Adenozin reseptörlerine bağlı oluşan vazodilatasyon cevabı: Amitriptiline bağlı vazodilatasyon oluşmasında bir diğer mekanizmanın da amitriptilinin adenozin A<sub>2a</sub> reseptör aktivasyonu sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir. Vasküler endotelde yerleşimli olan adenozin reseptörleri endotel aracılı NO salınımını artırmaktadır. Ancak adenozin aracılı vazodilatasyon cevabında en önemli mekanizma, vasküler düz kas üzerinde yerleşimli olan A<sub>2a</sub> reseptör aktivasyonudur. Adenozin A<sub>2a</sub> reseptörleri G<sub>s</sub> kenetlidir. Vasküler düz kas hücresinde ATP'ye duyarlı potasyum (K<sup>+</sup>) kanalları aktivasyonu sonucu hiperpolarizasyon oluşturarak vazodilatasyona sebep olduğu düşünülmektedir (Şekil 3).<sup>(7, 31)</sup>



**Şekil 3.** Adenozin A<sub>2a</sub> aracılı vazodilatasyon oluşum mekanizması<sup>(31)</sup>

NO aracılı vazodilatasyon cevabı: Amitriptilinin endotel aracılı NO sentezini artırması ile de vazodilatasyona neden olduğu düşünülmektedir. Endotelde reseptör veya kan akışı stresi ile oluşan aktivasyon sonucu hücre içi Ca<sup>+2</sup> düzeylerindeki artış, L-arjininden NO sentezini gerçekleştiren nitrik oksit sentaz enzimini aktive etmektedir. NO, çok kısa ömürlü ve lipofilik bir moleküldür ve endotelden hızla vasküler düz kas hücresine geçer. Hücre içinde sitoplazmik guanilat siklaz enzimini aktive ederek GTP'den cGMP oluşumu artırır. Hücre içi artan cGMP'nin Ca<sup>+2</sup> girişini inhibe ettiği, K<sup>+</sup> kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyona neden

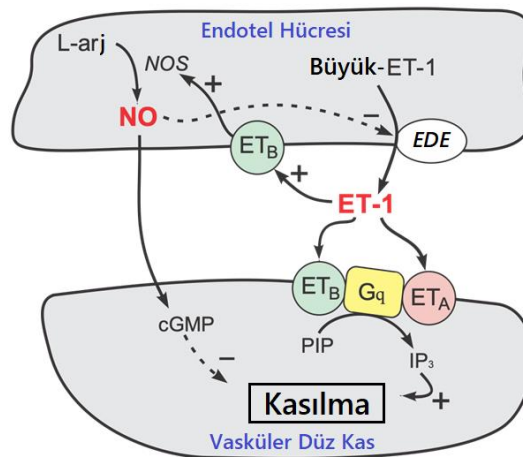
olduğu ve protein kinaz aktivasyonu ile miyozin hafif zincir fosfataz aktivasyonu sonucu gevşeme cevabını oluşturduğu düşünülmektedir (Şekil 4).<sup>(30-31)</sup>



**Şekil 4.** Endotel aracılı NO sentezi ve vasküler düz kasta gevşeme cevabı oluşması.<sup>(31)</sup>

Endotelin aracılı vazodilatasyon cevabı: Amitriptilinin NO sentezini artırması mekanizmalarından birinin endotelin reseptörü ET<sub>B</sub> aktivasyonu ile olduğu düşünülmektedir. Endotelinin, damar endoteli üzerinde ET<sub>B</sub> ve vasküler düz kas üzerinde ET<sub>A</sub> ile ET<sub>B</sub> reseptörleri bulunmaktadır. Endotelin salınmasını takiben ET<sub>A</sub> aracılı vazokonstriktör cevap baskın hale geçmekle birlikte, endotel üzerindeki ET<sub>B</sub> reseptörleri aracılı NO salınması da aktive olmaktadır. Ek olarak ET<sub>B</sub> reseptörleri endotelin-1'in klerensinde de yer almaktadır (Şekil 5).<sup>(31)</sup>

32)



**Şekil 5.** Endotelinin damar düz kas kasılma cevabı ve NO salımı üzerine etkileri.<sup>(31)</sup>

Ayrıca, amitriptilinin anjiogenez üzerine olumsuz etkiler gösterdiği, bu nedenle oluşan hipotansiyonun dirençli seyretmesine neden olabileceği bildirilmektedir. Amitriptilinin bu etkileri ve mekanizmaları şöyle özetlenebilir;

- a) Endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde hücre iskeleti organizasyonunu bozar.
- b) Otofajide görev alan lizozomal asit sfingomiyelinazı inhibe ederek sfingolipit sinyal mekanizmasını tetikleyen sfingozin-1-fosfat (S1P) oluşumunu inhibe eder.
- c) S1P aracılı sinyal yollarında Erk1/2, Akt ve eNOS (endotelial nitrik oksit sentaz) fosforilasyonunu inhibe ederek vasküler tüp formasyonu oluşumunu ve endotel hücre çoğalmasını engeller.
- d) Vasküler tüp formasyonu oluşumunu vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) aracılı olarak inhibe eder.<sup>(6)</sup>

#### *vi. Amitriptilin zehirlenmesinde klinik yaklaşım*

Amitriptilin zehirlenmelerinde tanı, genellikle öykü ile konulmaktadır. Amitriptiline bağlı zehirlenmelerde bulgular 30-40 dakika içerisinde başlar. Ciddi klinik belirti ve bulgular, 6-12 saatte ortaya çıkar. Ancak modifiye salınımlı farmasötik şekil kullanımı ya da ilaca ait antikolinergik etki nedeniyle gecikmiş toksisiteye de neden olabilmektedir. Amitriptilinin enterohepatik dolaşıma girmesi, toksik etki süresini uzatabilmektedir. Beraberinde sitokrom enzimlerini inhibe eden ilaç alımı olması ya da hastanın yavaş metabolizör olması halinde de etki süresinde uzama görülebilmektedir.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Toksik dozda ilaç alımını takiben ilk 1-2 saat içerisinde başvuran hastalarda gastrointestinal dekontaminasyon yöntemi olarak mide yıkama (kanıt düzeyi D) ve aktif kömür (kanıt düzeyi D) uygulaması önerilebilmektedir. Ancak hastanın bilincinin kapalı olması ya da bilinç durumunda hızlı kötüleşme olması halinde, hava yolu koruma altına alınmadan gastrointestinal dekontaminasyon yapılması önerilmemektedir. İlacın enterohepatik dolaşıma girmesi nedeniyle tekrarlayan doz aktif kömür uygulanabileceğini söyleyen yayınların yanı sıra, sakıncalı bulan yayınlar da bulunmaktadır (kanıt düzeyi D).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Semptomatik hastaların yaşamsal bulgular, kardiyak ritim ve mental bulgular açısından monitorize izlenmesi gerekmektedir. Düzenli olarak elektrokardiyografi (EKG) izlemi, serum elektrolitleri, böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının izlemi, metabolik asidoz gelişimi açısından kan gazı takibi (kanıt düzeyi E) ve özellikle uzamış nöbet olması durumunda rabdomiyoliz

açısından spot idrar tetkiki yapılması önerilmektedir. Çoklu ilaç alımı öyküsü olması durumunda, kan ve idrar ilaç analizlerinin yapılması tanı açısından yardımcı olmakla birlikte yalancı pozitiflikler açısından da dikkatli olunmalıdır. Ayrıca, serum TSA düzeyleri tanıda yardımcı olsa da klinik bulgularla korelasyon göstermediği için izlemde kullanılması önerilmemektedir.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Hastada başvuru sırasında hipotansiyon olması oldukça sıktır ve pulmoner ödem için 3 kat, kardiyak aritmi gelişimi için 7 kat risk artışına neden olabileceği bildirilmektedir.<sup>(5)</sup>

EKG değişikliklerinin erken dönemde değerlendirilmesi ve yakın izlemi önemlidir (kanıt düzeyi B). EKG’de QRS aralığının 100 ms’nin üzerinde olması nöbet gelişimi açısından, 160 ms’nin üzerinde olması aritmi gelişimi açısından prediktif değere sahiptir. QT aralığının 430 ms’den uzun olması da komplikasyon gelişimi açısından risk olduğunu göstermektedir. AVR üzerindeki R/S oranının 0.7’nin üzerinde olması, R dalgasının 3 mm’nin üzerinde olması nöbet ve aritmi gelişimi açısından güçlü prediktif değere sahiptir (kanıt düzeyi B).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Hastaların herhangi bir klinik belirti ve bulgu gelişimi açısından en az altı saat izlenmesi (kanıt düzeyi B), bulgu gelişmesi halinde ise gerilemesini takiben en az 24 saat izleme devam edilmesi önerilmektedir.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

#### *vii. Amitriptilin zehirlenmesinde tedavi yaklaşımları*

Amitriptilin zehirlenmelerindeki genel tedavi yaklaşımı; temel yaşam desteği ve semptomatik tedavidir. Asidoz ve hipotansiyonun, nörolojik ve kardiyovasküler komplikasyonların gelişme riskini artırmaları sebebiyle, etkin bir şekilde asidoz ve hipotansiyon tedavisi önerilmektedir. Hipotansiyon için ilk sıra tedavi intravenöz (i.v.) sıvı desteğidir (kanıt düzeyi D). Sodyum bikarbonat ise, tedaviye dirençli hipotansiyon (kanıt düzeyi C), aritmi (kanıt düzeyi C), QRS genişlemesi (kanıt düzeyi E) ve asidoz gelişmesi durumunda kullanılacak ilk sıra tedavidir.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Sodyum bikarbonatın kardiyovasküler toksik etkilerin tedavisindeki olası etki mekanizmaları aşağıdaki gibidir;

- Serum alkalinizasyonu ile asidozun düzeltilmesi,
- Alkalinizasyon sonucu TSA’ların proteine bağlanma oranında artış ve serbest ilaç miktarında azalma,

- Yüksek pH ile TSA'ların sodyum kanalına affinitesinin azaltılması,
- Sodyum yüklemesi,
- Hipokaleminin tetiklenmesi ile membran hipopolarizasyonu sağlaması sonucu sodyum kanalı blokajını ortadan kaldırması.

TSA zehirlenmesine bağlı disritmi ve hipotansiyonun tedavisinde serum alkalinizasyonu hedefi, pH değerinin 7.45-7.55 aralığında tutulmasıdır (kanıt düzeyi E).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Hipotansiyonun dirençli seyretmesi halinde vazopressör ilaçlar tedavide yer alabilmektedir (kanıt düzeyi D). Epinefrinin sodyum bikarbonatla birlikte kullanımının, norepinefrine oranla hipotansiyon ve disritmi gelişimini önlemede daha başarılı olduğu gösterilmiştir (kanıt düzeyi D). Tedaviye dirençli hipotansiyonda sırasıyla glukagon (kanıt düzeyi D), ekstrakorporeal membran oksijenasyonu (ECMO), kardiyopulmoner bypass, lipit emülsiyon (intralipit) tedavisi denenebilmektedir. Ancak bu tedavilerin etkililiği ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Tedaviye cevap vermeyen disritmilerde ise antiaritmik ilaçlar denenebilmektedir. Sınıf Ib antiaritmikler, Ia ve Ic'ye göre daha etkilidir. Ancak lidokain çoğunlukla etki göstermezken, fenitoin ritmin geri döndürülmesinde daha başarılıdır. Sınıf III ilaçlardan amiodaron QT uzamasında artışa neden olabilmektedir. Sınıf IV ilaçlardan  $\beta$  blokör ilaçlar, periferik vazodilatasyonu artırmaları nedeniyle önerilmemektedir. Kardiyoversiyon ve magnezyum sülfat (kanıt düzeyi D), Torsades de Pointes gelişmesi halinde uygulanabilmektedir. Uygulanan rutin tedavilere yanıt alınmaması durumunda, lipit emülsiyon tedavisi de disritmi tedavisinde denenebilmektedir (kanıt düzeyi D).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

TSA'lara bağlı gelişen ajitasyon ve nöbette ilk tercih benzodiazepinlerdir (kanıt düzeyi E). Ciddi olgularda fenobarbital, sedasyon ve fiziksel soğutma uygulanabilmektedir. Fenitoin, flumazenil ve fizostigmin kontrendikedir (kanıt düzeyi D).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

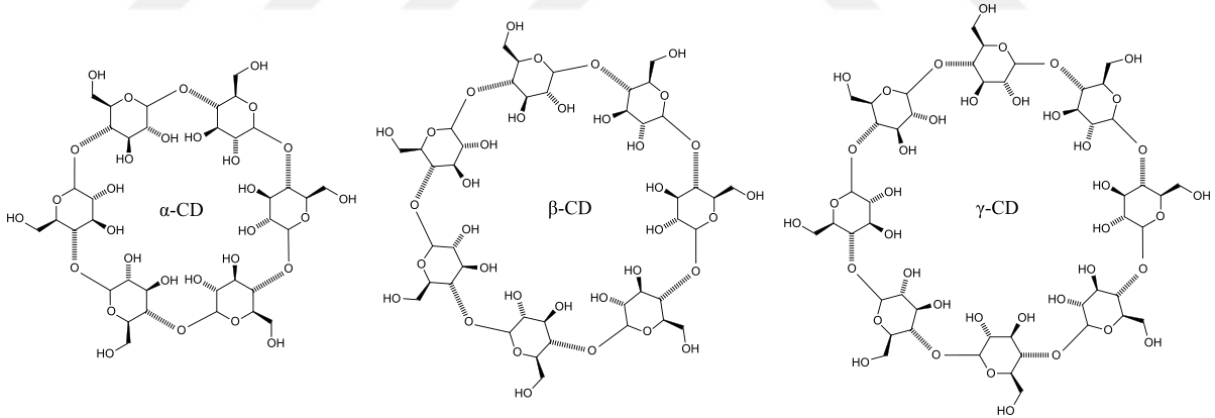
Eliminasyonu artırmak için kullanılan yöntemler (hemodiyaliz, hemofiltrasyon gibi), ilacın sanal dağılım hacminin yüksek olması ve proteinlere yüksek oranda bağlanması nedeniyle etkisizdir. Düşük oranda enterohepatik dolaşıma katılması nedeniyle tekrarlayan doz aktif kömür ve tüm bağırsak yıkama yöntemlerinin uygulaması tartışmalıdır (kanıt düzeyi D).<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

Yapılmış hayvan çalışmalarında, TSA zehirlenmesi için geliştirilen TSA antikoruna TCA-Fab'ın kardiyovasküler toksisiteyi geçici olarak geri döndürdüğü bildirilmektedir. Bir amitriptilin zehirlenmesi olgusunda, sodyum bikarbonat tedavisi sonrası TCA-Fab denendiği, EKG'de QRS süresi, QT aralığında düzelme ve hastanın klinik durumunda iyileşme olduğu rapor edilmiştir. Ancak, TSA zehirlenmelerinde kullanımlarının etkililiği ve güvenliliği ile ilgili kanıt düzeyi yetersizdir.<sup>(1, 4, 9, 24, 26)</sup>

## VIC. SIKLODEKSTRİNLER VE 2-HİDROKSİPROPİL-BETA-SIKLODEKSTRİN (2-HPBCD)

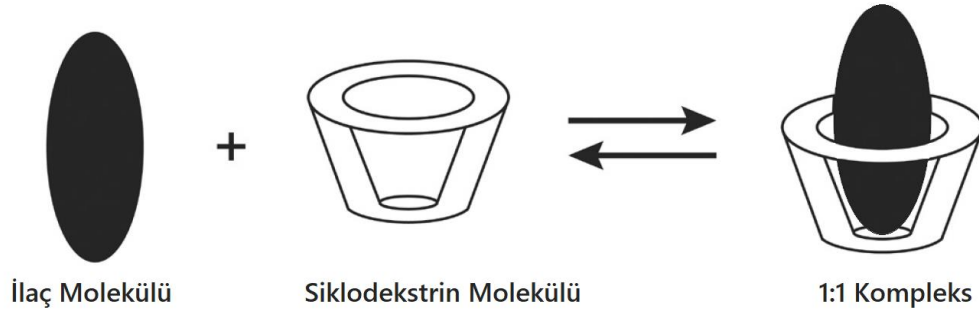
### vi. Siklodekstrinlerin farmakolojik özellikleri

Siklodekstrinler,  $\alpha$ -1-4 bağları ile bağlı glikoz oligomerlerinden oluşan, amiloz benzeri siklik yapıda maddelerdir. Glikoz birimlerinin sayısına göre  $\alpha$ -siklodekstrin (altı birim),  $\beta$ -siklodekstrin (yedi birim) ve  $\gamma$ -siklodekstrin (sekiz birim) olarak sınıflandırılırlar (Şekil 6). Molekül ağırlıkları sırasıyla 972.8, 1135.0 ve 1297.1 g/mol'dür.<sup>(33)</sup>



Şekil 6.  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  siklodekstrinlerin moleküler yapısı<sup>(33)</sup>

Siklodekstrinler suda çözünen moleküllerdir. Suda çözündüklerinde koni benzeri yapılarının merkezinde bulunan boşluk, çözeltiye göre daha lipofiliktir. Koni benzeri kimyasal yapıları sayesinde ilaçları bağlayarak “ilaç-siklodekstrin inklüzyon kompleksi” oluştururlar. İlaç molekülleri ve siklodekstrinler arasında sıklıkla 1:1 bağlanma oranı vardır (Şekil 7).<sup>(10, 34, 35)</sup>



**Şekil 7.** İlaç molekülü ve siklodekstrin bağlanması<sup>(34)</sup>

İlaç-siklodekstrin inklüzyon kompleksi, ilacın suda çözünürlüğü, stabilitesi, tadı, uçuculuğu, salıverilmesinin kontrolü gibi fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirebilmektedir. Bu sayede siklodekstrinler, ilaç taşıyıcı sistem olarak farmakolojide kullanım alanı bulmuşlardır. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı ilaç-siklodekstrin formülasyonları günümüzde kullanılmaktadır. Yeni oral ilaç taşıma sistemleri olarak piroksikam ve ramipril için araştırmalar devam etmektedir.<sup>(12, 34)</sup>

Siklodekstrinlerin ilaca ilgisinin (affinitesinin) büyüklüğü, inklüzyon kompleksinin hangi amaçla kullanılacağı konusunda belirleyicidir. Eğer siklodekstrinin ilaca affinitesi çok yüksek ise (bağlanma sabiti= $K_a > 10^5 \text{ M}^{-1}$ ), bağlanmanın geri dönüşsüz olacağı, inklüzyon kompleksinin hedef dokuya ulaşması durumunda bile, ilacın siklodekstrinden ayrılamayacağı varsayılmaktadır. Bu durumda, ilaç molekülünün dokuya geçemeyeceği ve farmakolojik etkinin oluşmayacağı öngörülebilir.<sup>(10, 34, 35)</sup>

Toksikolojide uygun bir antidot adayının, metabolizma üzerine kalıcı yan etki oluşturmadan, toksinin etkisini fiziksel, farmakokinetik ya da farmakodinamik mekanizmalarla sona erdirebilmesi beklenmektedir. Siklodekstrinlerin çeşitli ilaç moleküllerine olan yüksek affiniteleri, antidot olarak kullanılması açısından uygun bir aday molekül olmalarını sağlamıştır. Siklodekstrinin ilacı dokudan dolaşıma çekerek içine hapsedeceği, bu sayede farmakolojik etkisini sonlandıracağı hipotezi doğrultusunda yapılan çalışmalarda, bir  $\gamma$ -siklodekstrin derivativesi olan sugammadexin, roküronyuma çok yüksek affinite ( $K_a = 1.8 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ )



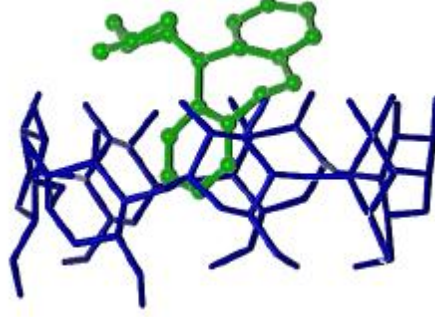
<sup>1)</sup> ve seçicilikle (1:1) bağlandığı gösterilmiştir. Bu sayede günümüzde sugammadeks, anestezi sonrası uzayan roküronyum etkisini sonlandırmak için kullanılmaktadır.<sup>(10, 34, 35)</sup>

Farmakokinetik çalışmalarda tek başına i.v. uygulanan siklodekstrinlerin ekstraselüler sıvıda dağıldığı ancak dokularda birikmediği, 6-12 saat sonra glomerüler filtrasyonla değişmeden idrarla atıldığı gösterilmiştir. Dağılım gösterdiği dokular arasında i.v. uygulamada böbrek korteksi başta olmak üzere, mesane ve adrenal bez, oral uygulamada karaciğer bulunmaktadır. Hayvanlarda yapılan toksikoloji çalışmalarında siklodekstrinlerin dağılım gösterdiği dokularda çeşitli toksik etkilerinin gözlemlendiği bildirilmektedir. Örneğin karaciğer, böbrek tübül ve mesane hücrelerinde vakuolizasyon, karaciğer, akciğer ve lenf nodlarında köpüksü makrofajlar ve kanda hemolize neden olduğu belirtilmektedir. Sistemik kullanımlarında siklodekstrinlere bağlı toksik etkiler özellikle böbrek proksimal tübül hücrelerinde kolesterol birikimine bağlı ortaya çıkmaktadır. Ancak kolesterol-siklodekstrin kompleksinin çözünürlüğüne bağlı olarak, siklodekstrinin farklı deriveleri arasında toksik etki şiddetinin değişiklik gösterdiği bildirilmektedir.  $\alpha$ -siklodekstrin,  $\beta$ -siklodekstrin ve metillenmiş- $\beta$ -siklodekstrine bağlı oluşan böbrek hücrelerinde vakuolizasyonun ve fonksiyon bozukluğunun geri dönüşsüz olduğu belirtilmektedir.<sup>(14, 34)</sup>

$\beta$ -siklodekstrinin anjiogenezi doza bağlı olarak etkilediği bildirilmektedir.<sup>(36,37)</sup> Bu etkinin mekanizmasının aydınlatılması için 2-HPBCD ile *in vivo* ve *in vitro* yapılan çalışmada; endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde Akt ve Erk aracılı eNOS aktivasyonu oluşturduğu, bu sayede hem endotel hem de vasküler düz kas hücrelerinde NO aracılı vasküler proliferasyonu; yine endotel hücrelerinde NO aracılı migrasyonu tetiklediği, anjiyojenik faktör ekspresyonlarını (endotel için VEGF-A, PDGF-BB, TGF-  $\beta$ 1; vasküler düz kas için bFGF) artırdığı bildirilmektedir.<sup>(13)</sup>

vii. Amitriptilin ve  $\beta$ -siklodekstrin ilişkisi

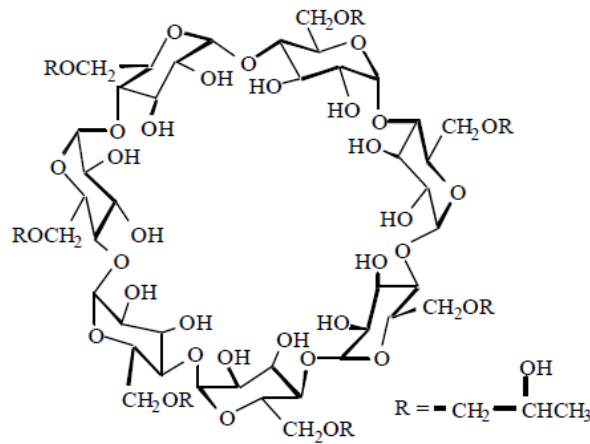
$\beta$ -siklodekstrinler TSA'larla ve özellikle amitriptilinle 1:1 oranında ve orta-yüksek affinite ( $K_a \approx 1500-3200 \text{ M}^{-1}$ ) ile bağlanmaktadır.<sup>(11)</sup> Bu bağlanma, amitriptilinin halka yapısının koni biçimli  $\beta$ -siklodekstrin içerisine kısmen girmesiyle oluşmaktadır (Şekil 8).<sup>(38)</sup>



Şekil 8. Amitriptilin ve  $\beta$ -siklodekstrin ilişkisi (mavi: siklodekstrin molekülü, yeşil: amitriptilin molekülü).<sup>(38)</sup>

vi. 2-Hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin (2-HPBCD) 'nin yapısı ve özellikleri

2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin (2-HPBCD), toksik olmayan ve ilaç çözünürlüğünü artırmak için eczacılıkta kullanılan bir maddedir. Molekül ağırlığı  $1396.0 \text{ g/mol}$ 'dür.<sup>(39)</sup> Moleküler yapısı Şekil 9'da gösterilmiştir. İlaçların çözünürlüğü, 2-HPBCD dozu arttıkça lineer bir artış göstermektedir. Amitriptilin ve 2-HPBCD molekülü bağlanması geri dönüşlüdür ( $K_a=1030 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>(14, 34)</sup>



Şekil 9. 2-HPBCD moleküler yapısı.<sup>(39)</sup>

Hayvanlarda yapılan toksikolojik çalışmalarda, 2-HPBCD uygulanması ile böbreklerde oluşan vakuolizasyonun  $\beta$ -siklodekstrinden farklı olarak geri dönüşlü olduğu, bunun da fizyolojik adaptasyon olarak kabul edilebileceği rapor edilmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda ise, 3-16 gram/gün dozunda sistemik 2-HPBCD uygulamalarının böbrek fonksiyonları üzerine olumsuz etkisi olmadığı bildirilmektedir.<sup>(14, 34)</sup>

Beta siklodekstrine kıyasla, 2-HPBCD'nin amitriptiline affinitesi daha düşük olmasına rağmen, 2-HPBCD'nin özellikle böbrek dokusu üzerine olumsuz etkilerinin bulunmaması veya oluşan etkilerin geri dönüşlü olması nedeniyle çalışmamızda 2-HPBCD kullanılmıştır.



## **VI. GEREÇLER VE YÖNTEM**

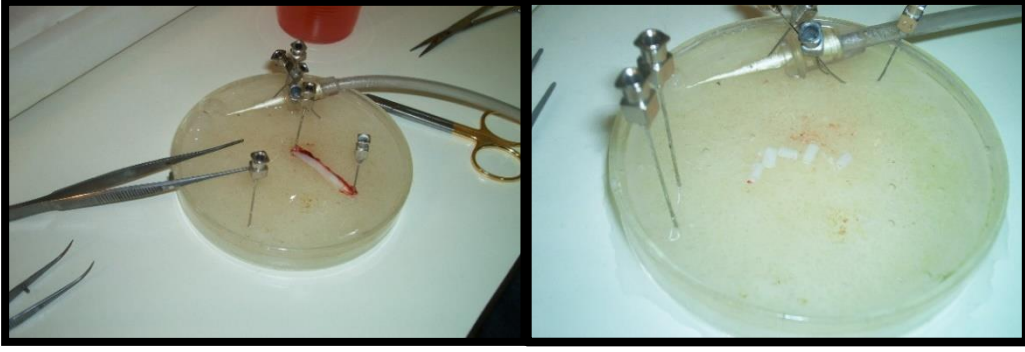
### **VIIA. ARAŞTIRMANIN TİPİ:** Deneysel hayvan çalışması

### **VIIB. ARAŞTIRMANIN YÖNTEMİ:**

Çalışmamız, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 21/2019 protokol numarası ile 10.04.2019 tarihinde izin alındıktan sonra, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamızda Ankara Lemali Hayvancılık Limited Şirketi'nden temin edilen, ağırlıkları 250.0-400.0 gram arasında değişen toplam 19 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Deney gününe kadar Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda standart sıçan pelet yemi ile beslenen, oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-12 saat karanlıkta barındırılan sıçanlar deney öncesinde 12 saat aç bırakıldı, sadece su içmelerine izin verildi.

### **VIIC. DOKULARIN HAZIRLANMASI:**

Sıçanlar üretan ve alfa kloraloz (500 mg/kg + 50 mg/kg, i.p.) anestezisinden sonra sakrifiye edildi (kardiyovasküler sistem çalışmalarında önerilen anestezi maddeleri üretan ve alfa kloraloz olduğu için, bu iki madde tercih edilmiştir).<sup>(15)</sup> Göğüs kafesleri açılarak torakal aorta dokuları dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Doku, oksijenlendirilmiş Krebs-Henseleit Bikarbonat (KHB) solüsyonu içinde çevre yağ ve bağ dokusundan temizlenerek 2-3 mm genişliğinde halka (ring) preparatlar hazırlandı (Resim 1).<sup>(7)</sup>



**Resim 1.** Dokuların hazırlanması

Hazırlanan preparatlar KHB solüsyonu içeren 10 mL'lik organ banyolarına asıldı. 37°C'de sabit tutulan banyo solüsyonu, % 95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırıldı. Dokular 1 gram izometrik gerilim altında 1 saat dinlendirildi. Preparatlar dinlenme periyodları boyunca 15 dakikalık intervallerle KHB solüsyonu ile yıkandı.<sup>(7)</sup>

#### **VIII. VERİLERİN KAYDI:**

Veriler izometrik transdüser (MAY TDA 99, Transducer Data Acquisition System, Ankara, Turkey) aracılığı ile bilgisayar programına (BIOPAC, Commat, Ankara, Turkey) kayıt edildi (Resim 2).



**Resim 2.** Dokuların izole organ banyosu sistemine asılması ve verilerin transducer aracılığı ile kaydı

## VIII. DENEYDE KULLANILAN İLAÇLAR VE ÇÖZELTİLER

Üretan, amitriptilin HCl, 2-hidroksipropil-β-siklodekstrin (2-HPBCD) ve Krebs-Henseleit çözeltisinde kullanılan kimyasal maddeler Sigma-Aldrich'ten (MO, ABD), alfa-kloraloz ise Alfa Aesar'dan (MA, ABD) temin edildi. Anestezik ilaçların stok solüsyonları distile suda hazırlandı (üretan 300 mg/mL ve alfa-kloraloz 40 mg/mL).

### i. Krebs- Henseleit Bikarbonat (KHB) çözeltisi:

pH: 7.4 olacak şekilde, mol/L'de 118.0 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 25.0 mM NaHCO<sub>3</sub>, 2.0 mM CaCl<sub>2</sub> ve 11.0 mM glukoz distile su içinde çözüldü.<sup>(7)</sup>

### ii. Potasyum klorür (KCl) ve asetilkolin (ACh) çözeltileri

Endotel canlılığının değerlendirilmesinde kullanılan KCl ve ACh çözeltileri için kullanılan maddeler ve derişimleri aşağıdaki gibidir.<sup>(7)</sup>

KCl çözeltisi; Distile su içerisinde 100.0 mM KCl, 22.7 mM NaCl, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 25.0 mM NaHCO<sub>3</sub>, 2.0 mM CaCl<sub>2</sub> ve 11.0 mM glukoz.

ACh çözeltisi stok olarak 10<sup>-2</sup> M distile su içerisinde hazırlandı, daha sonra 10<sup>-3</sup> M derişime seyreltildi. Organ banyosu (10 mL) içerisindeki nihai derişimin 10<sup>-5</sup> M olması sağlandı.

### iii. Norepinefrin (NE) stok ve deney solüsyonları

Daha önceki çalışmamızda hesaplanan; aort dokusu maksimal kasılma cevabının %80'inin (EC<sub>80</sub>) alındığı NE dozu olan 10<sup>-5</sup> M derişim kullanıldı.<sup>(7)</sup>

NE stok solüsyonu 10<sup>-3</sup> M olarak distile su içerisinde hazırlandı. Organ banyosu (10 mL) içerisindeki nihai derişimin 10<sup>-5</sup> M olması sağlandı.

### iv. 2-HPBCD ve amitriptilin stok ve deney solüsyonları

Daha önceki çalışmamızda hesaplanan; aort dokusu maksimal kasılma cevabının %80'inin alındığı (EC<sub>80</sub>) NE dozunda kasılmayı %50 inhibe eden (IC<sub>50</sub>) amitriptilin dozu olan 1.8 x 10<sup>-5</sup> M (4.75 M) derişimi kullanıldı.<sup>(7)</sup>

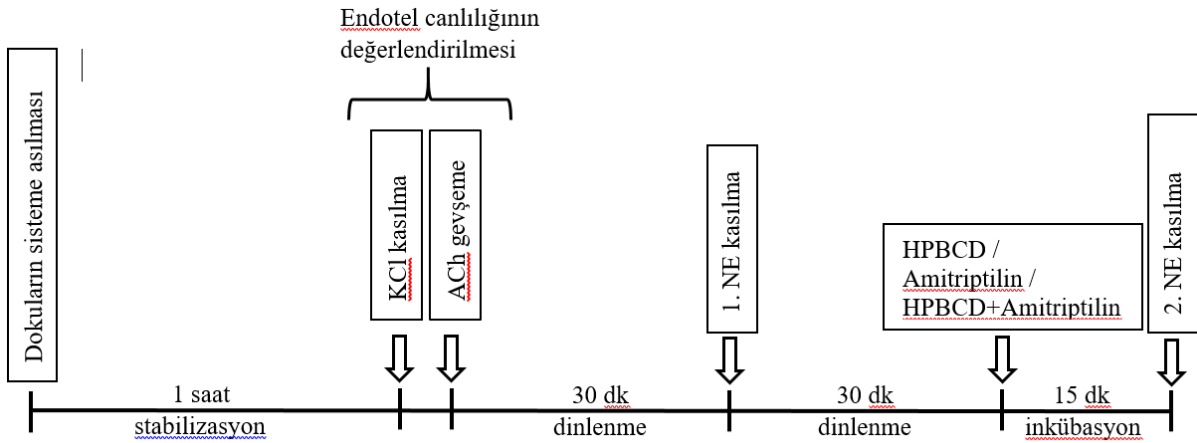
Amitriptilin stok solüsyonu  $1.8 \times 10^{-3}$  M olarak distile su içerisinde hazırlandı. Organ banyosu (10 mL) içerisindeki nihai derişimin  $1.8 \times 10^{-5}$  M olması sağlandı.

2-HPBCD ön çalışma ve deney gruplarında kullanılacak dozları, amitriptilin ile aynı hacimde ancak amitriptilin derişimine göre 1:1, 1:4 ve 1:20 molar oran olarak belirlendi.

2-HPBCD stokları sırasıyla  $1.8 \times 10^{-3}$  M,  $7.2 \times 10^{-3}$  M ve  $36.0 \times 10^{-3}$  M olarak hazırlandı. Organ banyosu (10 mL) içerisindeki nihai derişimlerin sırasıyla  $1.8 \times 10^{-5}$  M,  $7.2 \times 10^{-5}$  M ve  $36.0 \times 10^{-5}$  M olması sağlandı.<sup>(7, 15, 40)</sup>

## VIII. DENEY PROTOKOLLERİ

Çalışmamız ön çalışma ve dört deney grubundan oluştu. Ön çalışma ve deney gruplarında öncelikle endotel canlılığı test edildi. Bu amaçla, deneye alınan tüm dokular 100.0 mM KCl solüsyonu ile inkübe edilip kasılma cevabı platoya ulaştıktan sonra organ banyosuna  $10^{-5}$  M asetilkolin ilave edildi ve gevşeme cevabı izlendi. Asetilkolin ile gevşeme gözlenmeyen preparatlar çalışmadan çıkarıldı. Deneye alınan tüm dokular 30 dakika dinlendirildi (Şekil 10).<sup>(7)</sup>



Şekil 10. Ön çalışma ve deney protokolleri

### i. Ön çalışma (n=8):

Yüksek doz (1:20 molar oranda) 2-HPBCD'in tek başına damar üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapıldı.

Dinlenme sonrası; dokular  $10^{-5}$  M norepinefrin (NE) ile kasıldı. Otuz dakika dinlenme süresini takiben, tek başına 2-HPBCD etkisini değerlendirmek amacıyla, organ banyosuna

(1:20 molar oranda) 2-HPBCD eklenerek 15 dakika inkübe edildi. Takiben,  $10^{-5}$  M NE' nin etkisi test edildi. Dokuların 2-HPBCD eklenmeksizin ve eklendikten sonraki NE cevapları karşılaştırıldı (Tablo 2).

*ii. Deney grupları:*

Amitriptiline bağlı gelişen vazodilatasyona farklı dozlardaki 2-HPBCD'nin etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapıldı.

Endotel canlılığı test edilip 30 dakika dinlenme süresini tamamlayan tüm deney grubu dokularına  $10^{-5}$  M norepinefrin (NE) uygulandı ve kasılma cevabı değerlendirildi. Ardından aort dokuları randomize olarak dört gruba ayrıldı.<sup>(7, 15, 40)</sup>

**- Grup 1 (Amitriptilin, n=9)**

Otuz dakikalık dinlenme periyodunu takiben organ banyosuna  $1.8 \times 10^{-5}$  M amitriptilin ( $IC_{50}$ ) eklenerek 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon periyodunu takiben  $10^{-5}$  M NE banyoya ilave edildi ve kasılma cevabı değerlendirildi (Tablo 2).

**- Grup 2 [(1:1) Amitriptilin + 2-HPBCD, n=8]**

Otuz dakikalık dinlenme periyodunu takiben organ banyosuna  $1.8 \times 10^{-5}$  M amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranda 2-HPBCD eklenerek 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon periyodunu takiben  $10^{-5}$  M NE banyoya ilave edildi ve kasılma cevabı değerlendirildi (Tablo 2).

**- Grup 3 [(1:4) Amitriptilin + 2-HPBCD, n=8]**

Otuz dakikalık dinlenme periyodunu takiben organ banyosuna  $1.8 \times 10^{-5}$  M amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranda 2-HPBCD eklenerek 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon periyodunu takiben  $10^{-5}$  M NE banyoya ilave edildi ve kasılma cevabı değerlendirildi (Tablo 2).

**- Grup 4 [(1:20) Amitriptilin + 2-HPBCD, n=10]**

Otuz dakikalık dinlenme periyodunu takiben organ banyosuna  $1.8 \times 10^{-5}$  M amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranda 2-HPBCD eklenerek 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon periyodunu takiben  $10^{-5}$  M NE banyoya ilave edildi ve kasılma cevabı değerlendirildi (Tablo 2).



**Tablo 2.** Ön çalışma ve deney protokolleri

Stabilizasyon	Dokuların canlılığının test edilmesi		Dinlenme	Kasılma cevabı	Dinlenme	Test maddesi inkübasyonu (15 dk)	Kasılma cevabı
1 saat	100.0 mM KCl	$10^{-5}$ M ACh	30 dk	$10^{-5}$ M NE	30 dk	2-HPBCD Yüksek doz	$10^{-5}$ M NE
						Amitriptilin ( $IC_{50}= 1.8 \times 10^{-5}$ M)	
						Amitriptilin+2-HPBCD (1:1 molar oranda)	
						Amitriptilin+2-HPBCD (1:4 molar oranda)	
Amitriptilin+2-HPBCD (1:20 molar oranda)							

## VIII. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Başlangıç verileri için ölçüm değerleri, diğer zamanlar için başlangıca göre yüzde değişim değerleri kullanıldı. Yüzde kasılma değerinin belirlenmesi için dokuların başlangıç değerleri %100.0 olarak alındı ve norepinefrin uygulanması sonrası elde edilen birinci cevap bu değere göre oranlanarak hesaplandı, ardından ikinci NE cevabı ilk NE cevabına göre kıyaslandı.

Gevşetici ajanların cevaplarında ise (ACh), KCl uygulanması ile oluşan kasılma cevabı %100 olarak alındı ve ACh uygulanması ile bu kasılma sonrasında oluşan gevşeme cevapları, bu değere göre hesaplanarak elde edildi. Tablo ve grafiklerde verilen n sayıları, kullanılan doku sayılarını göstermektedir. İstatistiksel değerlendirmeler, Graph Pad Prism 5 (GraphPad Software, ABD) programı ile yapıldı. Tüm veriler ortalama±standart hata (ortalama±SH) ile gösterildi. Grup içi karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmeli Student'ın t testi, gruplararası karşılaştırmalarda varyans analizi (ANOVA) ve onu izleyen çoklu karşılaştırma testleri (Tukey-Kramer) kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p<0.05$  olarak kabul edildi.

## VIII. BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan sıçanların vücut ağırlıkları ortalama  $345.1 \pm 17.0$  gram idi. Ön çalışma ve deney gruplarında kullanılan sıçanların vücut ağırlıkları ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ , Tablo 3).

**Tablo 3.** Ön çalışma ve deney gruplarının vücut ağırlıkları

	Ön çalışma grubu	Deney grupları			
		Grup 1 (Amitriptilin)	Grup 2 (1:1 Amitriptilin + 2-HPBCD)	Grup 3 (1:4 Amitriptilin + 2-HPBCD)	Grup 4 (1:20 Amitriptilin + 2-HPBCD)
Sayı (n)	8	9	8	8	10
Vücut ağırlığı (g) ortalama $\pm$ SD	262.0 $\pm$ 2.8	381.3 $\pm$ 16.7	391.0 $\pm$ 26.9	377.5 $\pm$ 6.4	295.5 $\pm$ 38.9

(2-HPBCD: 2-Hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin)

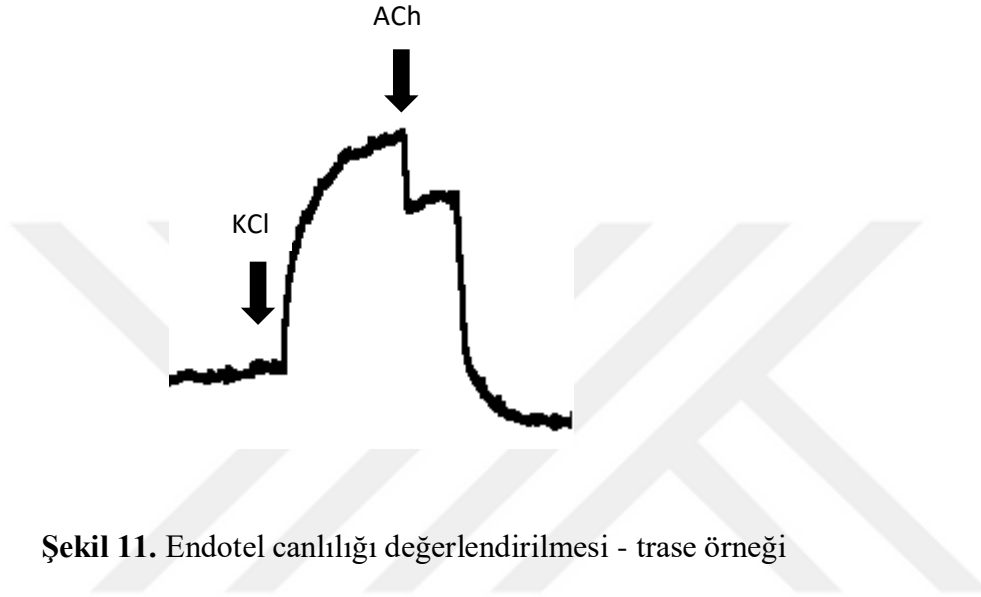
Ayrıca, dokuların başlangıç değerleri (mg) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0.05$ , Tablo 4).

**Tablo 4.** Ön çalışma ve deney grubu aort dokularının başlangıç değerleri (mg)

	Ön çalışma grubu	Deney grupları			
		Grup 1 (Amitriptilin)	Grup 2 (1:1 Amitriptilin + 2-HPBCD)	Grup 3 (1:4 Amitriptilin + 2-HPBCD)	Grup 4 (1:20 Amitriptilin + 2-HPBCD)
Sayı (n)	8	9	8	8	10
Başlangıç değerleri (mg) ortalama $\pm$ SD	1087.0 $\pm$ 233.3	1358.0 $\pm$ 189.3	1406.0 $\pm$ 198.9	1160.0 $\pm$ 152.2	1249.0 $\pm$ 261.4

İzole aort dokularının tümü, endotel canlılığını test etmek amacıyla 100.0 mM potasyum klorür (KCl) solüsyonu ile inkübe edildi ve kasılma cevapları kaydedildi. Ardından, KCl ile kasılma cevabı platoya ulaştıktan sonra organ banyosuna  $10^{-5}$  M asetilkolin (ACh) eklendi.

Dokuların KCl ile maksimum kasılma cevabı ortalama  $1646.0 \pm 389.2$  mg idi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Ön çalışma grubu, Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 için sırasıyla;  $1631.2 \pm 290.8$  mg,  $1469.9 \pm 264.2$  mg,  $1555.3 \pm 209.5$  mg,  $1088.9 \pm 424.5$  mg ve  $1513.2 \pm 262.9$ ;  $p > 0.05$ ). Ayrıca, dokular KCl sonrası ACh ile ortalama  $\%46.8 \pm 6.4$  gevşeme cevabı oluşturdu. Trase örneği Şekil 11’de verilmiştir. Gruplararası karşılaştırmada ACh gevşeme cevaplarında istatistiksel olarak farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ).



Şekil 11. Endotel canlılığı değerlendirilmesi - trase örneği

#### VIIIA. ÖN ÇALIŞMA: 2-HPBCD’İN TEK BAŞINA DAMAR ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ön çalışma protokolünde; 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin (2-HPBCD)’in tek başına aort dokusu üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Bu doğrultuda, dokulara  $10^{-5}$  M konsantrasyonda norepinefrin (NE) uygulanması ile elde edilen kasılma cevabı ile yüksek doz 2-HPBCD’in (1:20 molar oranındaki deney grubuna eşit konsantrasyonda) inkübasyonu sonrası tekrar NE uygulanması ile elde edilen kasılma cevapları karşılaştırıldı. Elde edilen kasılma cevapları birinci NE için ortalama  $2101.4 \pm 564.5$  mg ve ikinci NE için ortalama  $1983.4 \pm 425.7$  mg (sırasıyla, başlangıca göre  $\%267.7$  ve  $\%252.7$  kasılma cevabı) olarak saptandı. Yüksek konsantrasyonda 2-HPBCD inkübasyonunun dokulardaki NE kasılma cevabı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlemlendi ( $p > 0.05$ ). Trase örneği Şekil 12’de verilmiştir.



**Şekil 12.** Ön çalışma grubu dokularına tek başına 2-HPBCD'nin etkisinin değerlendirildiği trase örneği

### VIIIB. DENEY GRUPLARI: AMİTRİPTİLİN ZEHİRLENMESİ MODELİNDE 2-HPBCD'NİN FARKLI DOZLARININ DAMAR CEVABI ÜZERİNE ETKİLERİ

Deney protokollerinin başlangıcında endotel canlılığı değerlendirilen ve yeterli cevap alınan dokular çalışmaya dâhil edildi.

Grup 1'de, tek başına amitriptilinin etkisinin değerlendirilebilmesi için, dokulara amitriptilin inkübasyonu öncesi ve sonrası  $10^{-5}$  M konsantrasyonda NE uygulandı ve elde edilen kasılma cevapları karşılaştırıldı. Amitriptilin ( $IC_{50} = 1.8 \times 10^{-5}$  M) inkübasyonu, NE kasılma cevabında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde,  $45.3 \pm 5.6$  oranında inhibisyon oluşturdu ( $p < 0.0001$ , Tablo 5, Grafik 1).

**Tablo 5.** Amitriptilinin tek başına etkisinin değerlendirilmesi

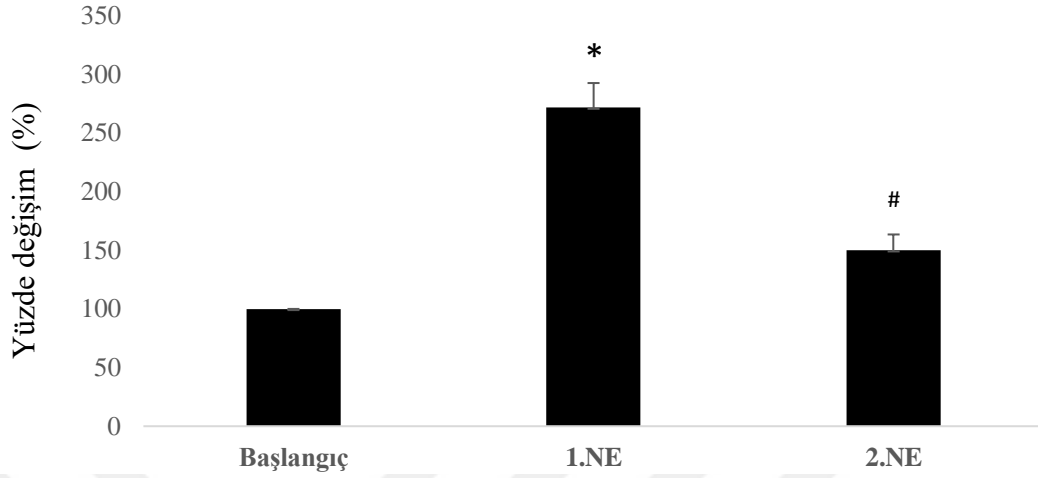
	Başlangıç (mg)	1. NE cevapları (mg)	2. NE cevapları (mg)	p
<b>Grup 1 (Amitriptilin)</b>	1221.5±574.1	3317.8±611.2*	1832.3±498.8 #	<0.0001

\*  $p < 0.0001$  = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,

#  $p < 0.0001$  = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.

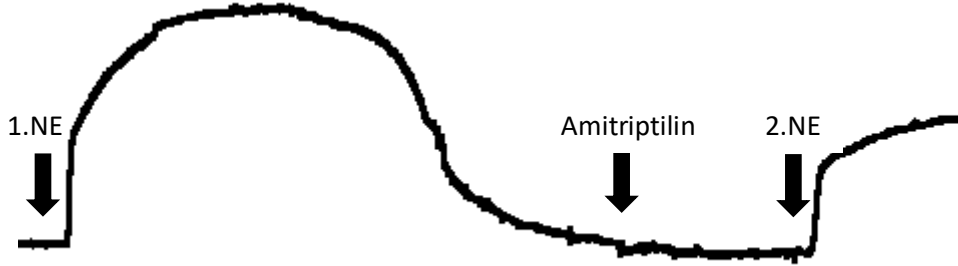
NE= Norepinefrin

**Grafik 1.** Amitriptilin inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi – yüzde değişim grafiği



\* p<0.0001= Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,  
# p<0.0001= 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.  
NE= Norepinefrin

Amitriptilin inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisini gösteren trase örneği Şekil 13’te verilmiştir.



**Şekil 13.** Amitriptilin inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

Grup 2 (1:1 Amitriptilin + 2-HPBCD) grubunda, dokuların amitriptilin ile eşit dozda, 1:1 molar oranında 2-HPBCD ile birlikte inkübasyonunun, NE kasılma cevapları üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Dokulara amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonu öncesi ve sonrası  $10^{-5}$  M konsantrasyonda NE uygulandı ve elde edilen kasılma cevapları karşılaştırıldı. Amitriptilin ( $IC_{50}= 1.8 \times 10^{-5}$  M) ile 1:1 molar oranında 2-HPBCD

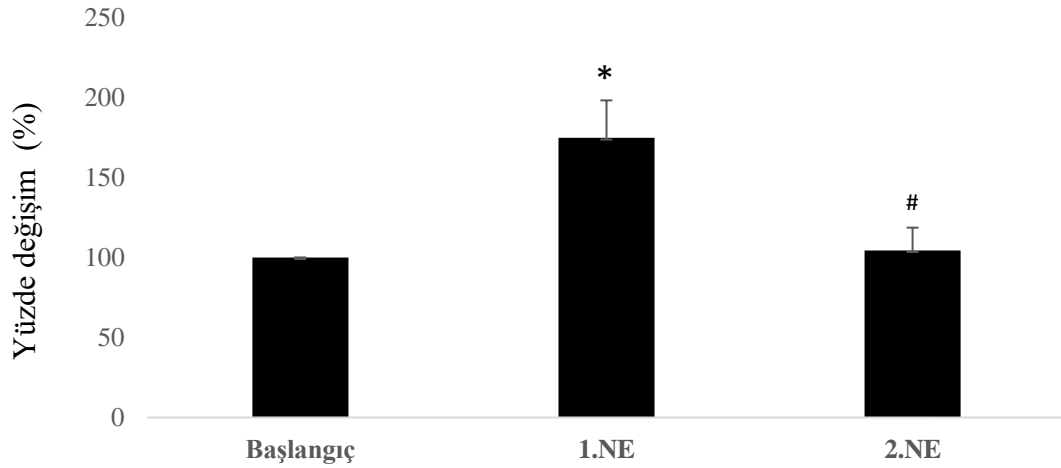
inkübasyonu, NE kasılma cevabında %43.2±11.4 oranında inhibisyon oluşturdu ( $p<0.0001$ , Tablo 6, Grafik 2). Amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranında 2-HPBCD'nin NE kasılma cevabında oluşturduğu inhibitör etki, tek başına amitriptilin inkübasyonunun oluşturduğu inhibitör etki ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (sırasıyla %43.2±11.4 ve %45.3±5.6,  $p>0.05$ , Grafik 5).

**Tablo 6.** Amitriptilin ile 1:1 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi

	Başlangıç (mg)	1. NE cevapları (mg)	2. NE cevapları (mg)	p
<b>Grup 2 (Amitriptilin + 1:1 2-HPBCD)</b>	1226.5±336.2	2141.2±497.6 *	1280.9±479.9 #	<0.001

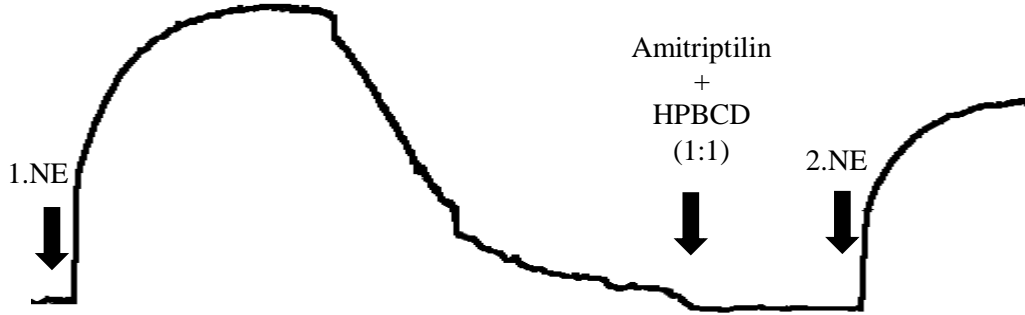
\*  $p<0.001$ = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,  
#  $p<0.001$ = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.  
NE= Norepinefrin.

**Grafik 2.** Amitriptilin ile 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği



\*  $p<0.001$ = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,  
#  $p<0.001$ = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.  
NE= Norepinefrin

Amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisini gösteren trase örneği Şekil 14'te verilmiştir.



**Şekil 14.** Amitriptilin ile birlikte 1:1 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

Grup 3 (1:4 Amitriptilin + 2-HPBCD) grubunda, dokuların amitriptilin ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD ile birlikte inkübasyonunun, NE kasılma cevapları üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Dokulara amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonu öncesi ve sonrası  $10^{-5}$  M konsantrasyonda NE uygulandı ve elde edilen kasılma cevapları karşılaştırıldı. Amitriptilin ( $IC_{50} = 1.8 \times 10^{-5}$  M) ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonu, NE kasılma cevabında  $\%39.1 \pm 13.7$  oranında inhibisyon oluşturdu ( $p < 0.0001$ , Tablo 7, Grafik 3). Amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranında 2-HPBCD'nin NE kasılma cevabında oluşturduğu inhibitör etki, tek başına amitriptilin inkübasyonunun oluşturduğu inhibitör etki ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (sırasıyla  $\%39.1 \pm 13.7$  ve  $\%45.3 \pm 5.6$ ,  $p > 0.05$ , Grafik 5).

**Tablo 7.** Amitriptilin ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi

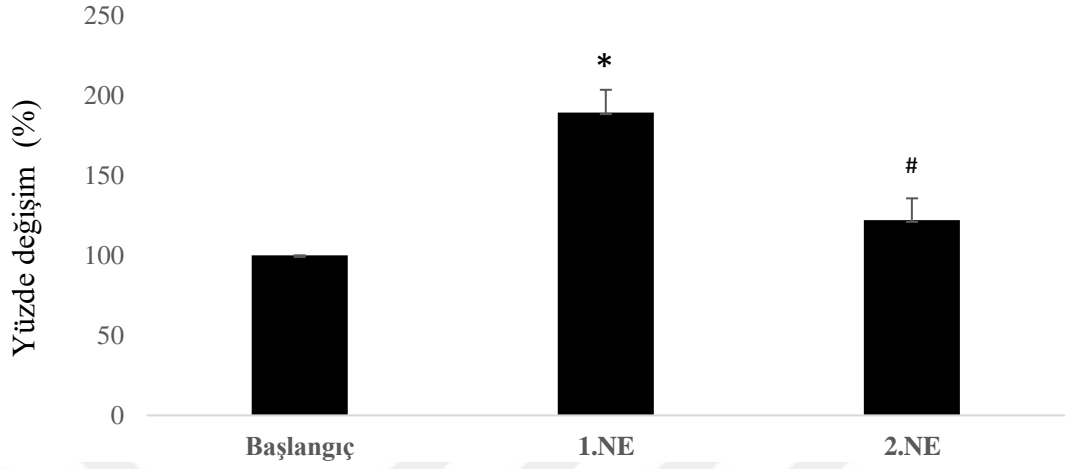
	Başlangıç (mg)	1. NE cevapları (mg)	2. NE cevapları (mg)	p
<b>Grup 3 (Amitriptilin+ 1:4 2-HPBCD)</b>	1081.2±375.2	2045.1±454.3 *	1318.1±296.3 #	<0.0001

\*  $p < 0.0001$  = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,

#  $p < 0.0001$  = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.

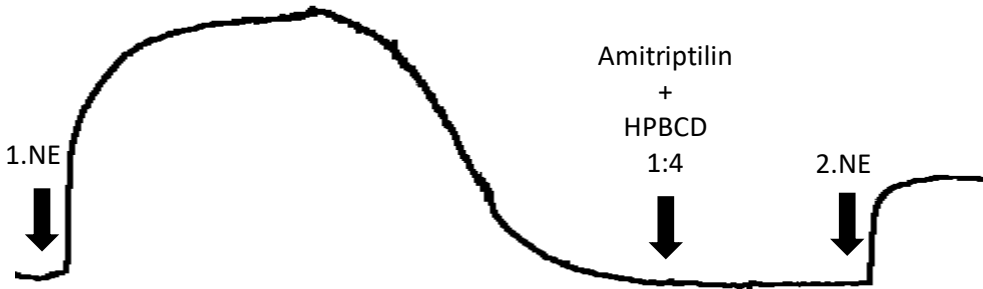
NE= Norepinefrin

**Grafik 3.** Amitriptilin ile 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği



\* p<0.0001= Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,  
# p<0.0001= 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.  
NE= Norepinefrin

Amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisini gösteren trase örneği Şekil 15'te verilmiştir.



**Şekil 15.** Amitriptilin ile birlikte 1:4 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

Grup 4 (1:20 Amitriptilin + 2-HPBCD) grubunda, dokuların amitriptilin ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD ile birlikte inkübasyonunun, NE kasılma cevapları üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlandı. Dokulara amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonu öncesi ve sonrası  $10^{-5}$  M konsantrasyonda NE uygulandı ve elde edilen kasılma



cevapları karşılaştırıldı. Amitriptilin ( $IC_{50}= 1.8 \times 10^{-5}$  M) ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonu, NE kasılma cevabında  $\%30.3 \pm 11.4$  oranında inhibisyon oluşturdu ( $p < 0.0001$ , Tablo 8, Grafik 4). Amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD'nin NE kasılma cevabında oluşturduğu inhibitör etki, tek başına amitriptilin inkübasyonunun oluşturduğu inhibitör etki ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı (sırasıyla  $\%30.3 \pm 11.4$  ve  $\%45.3 \pm 5.6$ ,  $p < 0.05$ , Grafik 5). 1:20 oranında 2-HPBCD inkübasyonunun, amitriptiline bağlı NE kasılma cevabında meydana gelen inhibisyonu azalttığı bulundu.

**Tablo 8.** Amitriptilin ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD'nin birlikte etkisinin değerlendirilmesi

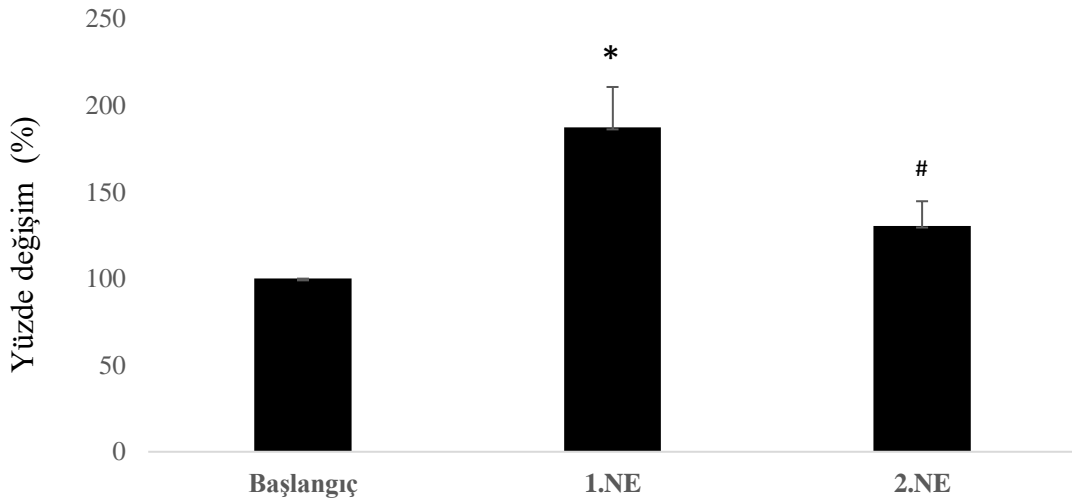
	Başlangıç (mg)	1. NE cevapları (mg)	2. NE cevapları (mg)	p
<b>Grup 4 (Amitriptilin+ 1:20 2-HPBCD)</b>	1190.5±298.2	2228.6±567.1 *	1553.3±543.5 #	<0.0001

\*  $p < 0.0001$  = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,

#  $p < 0.0001$  = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.

NE= Norepinefrin

**Grafik 4.** Amitriptilin ile 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabına etkisi - yüzde değişim grafiği



\*  $p < 0.0001$  = Başlangıç ile 1. NE cevaplarının karşılaştırılması,

#  $p < 0.0001$  = 1. NE cevapları ile 2. NE cevaplarının karşılaştırılması.

NE= Norepinefrin

Amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisini gösteren trase örneği Şekil 16’da verilmiştir.

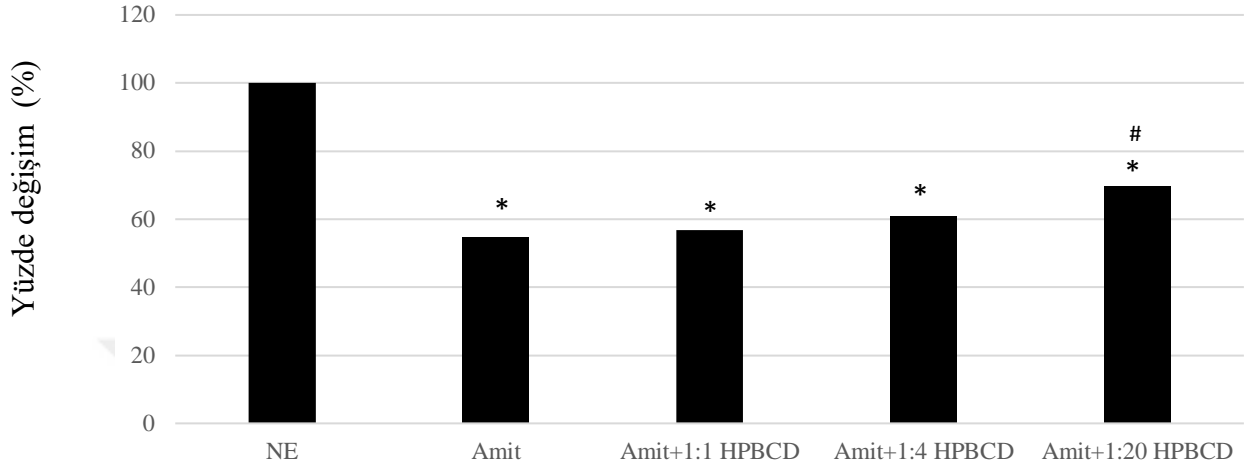


**Şekil 16.** Amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD inkübasyonunun norepinefrin kasılma cevabı üzerine etkisi - trase örneği

#### ***Gruplararası değerlendirme:***

Amitriptilin inkübasyonunun NE kasılma cevabı üzerine inhibitör etkisinin, 2-HPBCD'nin 3 farklı dozda (1:1, 1:4 ve 1:20 molar oranlarda) inkübasyonları ile nasıl değiştiğinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, tüm grupların ikinci uygulanan NE kasılma cevapları karşılaştırıldı. İkinci NE uygulamaları ile elde edilen kasılma cevapları arasında gruplararası karşılaştırma yapıldığında, tek başına amitriptilin inkübasyonu ile amitriptilin ile birlikte 1:20 molar oranında 2-HPBCD uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulundu ( $p<0.05$ , Grafik 5).

**Grafik 5.** Farklı dozlarda 2-HPBCD uygulamalarının amitriptiline bağlı oluşan inhibisyona etkisi – gruplararası karşılaştırma (NE; Norepinefrin, Amit; Amitriptilin, 2-HPBCD; 2-hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin)



\*  $p < 0.0001$  = NE cevapları ile karşılaştırılması,

#  $p < 0.05$  = Tek başına amitriptilin cevapları ile karşılaştırılması.

## **IX. TARTISMA**

Çalışmamızda, sıçan aortasında amitriptilinin neden olduğu ve klinikte dirençli hipotansiyon oluşum mekanizmaları arasında yer alan vazodilatasyon üzerine, 2-hidroksipropil-β-siklodekstrinin (2-HPBCD) etkisi *in vitro* koşullarda araştırıldı. 2-HPBCD molekülünün tek başına vasküler kasılma cevabı üzerine etkisi olup olmadığının gösterilmesinin ardından, amitriptilin ile oluşturulan vazodilatasyon cevabı üzerine farklı dozlarda 2-HPBCD etkileri değerlendirildi ve deney protokolümüzde denenen en yüksek konsantrasyonda (1:20 molar konsantrasyonda), amitriptiline bağlı gelişen norepinefrin (NE) kasılma cevabında meydana gelen inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı bulundu. Literatürde 2-HPBCD molekülünün *in vitro* vasküler dokudaki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız bu konuda yapılmış ilk araştırma olup, özgündür.

Trisiklik antidepresan (TSA) zehirlenmeleri, klinikte sık görülen ve ağır bulgularla seyreden bir klinik tablodur.<sup>(1)</sup> Amerika'da 20 yaş ve üzeri hastalarda tüm zehirlenme nedenleri arasında antidepresanlar üçüncü sıradadır. Antidepresanlar içinde TSA ile zehirlenmeler dördüncü sırada yer almakta olup, ölümlü sonuçlanan zehirlenmeler arasında ilk 15 etken içerisinde yer almaktadır.<sup>(2)</sup> Hong-Kong'da yıllık zehirlenme olguları arasında antidepresan ilaç grupları, ilk 15 zehirlenme etkeni içindedir.<sup>(36)</sup> DEÜ ZDM tarafından yapılan yıllık değerlendirmelerin verilerine göre, 2015-2016 yıllarında bildirilen antidepresan zehirlenmeleri arasında TSA'ların üçüncü sırada yer aldığı belirtilmektedir.<sup>(3)</sup> Türkiye'de yoğun bakıma kabul edilen zehirlenme olguları arasında ilaç kullanımına bağlı yatışlar arasında antidepresanlar ve analjezikler ilk sıradadır. Antidepresanlar arasında ise ilk sırada amitriptilin bulunmaktadır.<sup>(42)</sup>

Hipotansiyon, amitriptilin zehirlenmesinde sık görülen, tedaviye dirençli olabilen ve hayatı tehdit edebilen bir bulgudur. TSA zehirlenmesine bağlı hipotansiyonun tedavisinde sırasıyla; intravenöz sıvı replasmanı, sodyum bikarbonat, vazopressör ve inotrop ajanlar, standart tedaviye yanıt alınmadığı takdirde glukagon, ekstrakorporeal membran oksijenasyonu (ECMO) ve intralipit tedavisi önerilmektedir. Ancak bu tedavilerin yararlılığına ilişkin verilerin kanıt düzeyi yeterli değildir. Hipotansiyon gelişiminde kullanılacak özgül antidot tedavisi mevcut olmayıp, geliştirilmesine ilişkin deneysel çalışmalar devam etmekte olup,<sup>(4, 7-9)</sup> yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Siklodekstrinler, çeşitli ilaç moleküllerine yüksek affinite gösteren, bu nedenle roküronyum, verapamil gibi lipit/su partiyon katsayısı yüksek ilaçların etkilerinin azaltılmasında ya da geri döndürülmesinde etkili olan maddelerdir.  $\beta$ -siklodekstrinler, amitriptiline 1:1 molar oranında ve orta-yüksek affinite ile bağlanmaktadır.<sup>(38)</sup> Bu nedenle amitriptiline bağlı gelişen hipotansiyon tedavisinde, 2-HPBCD uygulamasının amitriptiline bağlı gelişen vazodilatasyonu azaltabileceği düşünülmüş ve araştırmamızın konusu olmuştur.

$\beta$ -siklodekstrinler, hemoliz, apoptotik hücre ölümü ve geri dönüşsüz böbrek hasarına neden olabilmektedir.  $\beta$ -siklodekstrinin bir türevi olan 2-HPBCD'nin ise yüksek dozlarda intravenöz (i.v.) kullanımda akciğer, böbrek ve dalakta, oral kullanımda ise karaciğerde hafif toksik etkilere neden olduğu ve bu etkilerin geri dönüşlü olduğu gösterilmiştir. İnsanlardaki 2-HPBCD çalışmalarında ise ciddi advers etki bildirilmemiştir.<sup>(14)</sup> Bu nedenle araştırmamızda 2-HPBCD seçilmiştir. Aydın ve ark. tarafından *in vivo* koşullarda amitriptilin ile oluşturulan kardiyovasküler toksik etkilerin geri döndürülmesinde 2-HPBCD'nin araştırıldığı çalışmada, Wistar albino türü erkek sıçanlara, 15 dakika süreyle 16.76 mg/kg/dk dozunda 2-HPBCD'nin tek başına infüzyonunun ortalama arteriyel basınç, kalp hızı, EKG'de QRS ve QT uzaması üzerine etkisinin olmadığı bildirilmektedir.<sup>(15)</sup> Benzer şekilde, Brewster ve ark. tarafından Sprague-Dawley sıçanlar üzerinde yapılan subakut (14 gün süreyle iki günde bir) ve subkronik (91 gün boyunca iki günde bir) intravenöz 200 mg/kg 2-HPBCD uygulamasının ve maymunlar üzerinde yapılan akut (ilk gün 2 g/kg ve üç gün sonra 10 g/kg) ve subkronik (91 gün boyunca iki günde bir) intravenöz 200 mg/kg/g 2-HPBCD uygulamasının; sağkalım ve kardiyak morfoloji üzerine toksik etkisinin olmadığı rapor edilmektedir.<sup>(43)</sup> Rosseels ve ark. tarafından *in vivo* Beagle cinsi köpekler üzerinde yapılan çalışmada ise 200, 400 ve 800 mg/kg dozlarında 2-HPBCD'nin intravenöz infüzyon olarak uygulandığı, dişi köpeklerde yüksek dozda (800 mg/kg) total periferik direnç, renal vasküler direnç ve kan basıncında anlamlı artış gözlemlendiği, pulmoner basınçta ise değişiklik oluşmadığı bildirilmektedir.<sup>(44)</sup> Bizim çalışmamızda, *in vitro* koşullarda izole aort dokusunda, tek başına yüksek doz (1:20 molar oranda) 2-HPBCD'in norepinefrinin kasılma cevabı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı saptandı (p>0.05). 2-HPBCD, tek başına oluşturduğu etki türe, cinsiyete ve doza göre değişkenlik gösterebilmektedir, ancak kardiyovasküler sistem üzerine belirgin toksik etkileri bulunmamaktadır.

Amitriptilinin vasküler düz kas üzerine gevşetici etkisine <sup>(7, 45-49)</sup> ve *in vivo* hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarda vazodilatasyon cevabına bağlı hipotansiyona neden olduğu ve

bu etkilerin mekanizmalarına ilişkin pek çok çalışma mevcuttur.<sup>(5, 15, 30, 50-52)</sup> Huang tarafından yapılan araştırmada 0.3-3.0 µM dozlarda amitriptilinin *in vitro* aort kasılması üzerine α-adrenerjik reseptör blokajı etkisinin yanında hücre içine Ca<sup>+2</sup> girişinin inhibisyonu ve protein kinaz C aracılı kasılma cevabının inhibe edilmesi gibi mekanizmalarla doza bağımlı, yarışmalı olmayan ve endotelden bağımsız olarak vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir.<sup>(49)</sup> Tunçok ve ark. tarafından yapılan çalışmada *in vivo* 0.625 mg/kg/dk amitriptilin infüzyonu yapılan ve hipotansiyon gelişen sıçanlarda; endotel aracılı gevşeme cevabı oluşturan NO'nun etkilerini önlemek amacıyla verilen NO sentez inhibitörünün hipotansiyonu geri döndürdüğü gösterilmiştir.<sup>(30)</sup> Ribback ve ark. tarafından *in vitro* sıçan aortu ile yapılan çalışmanın sonucunda da düşük dozda amitriptilin inkübasyonunun endotelial NO aracılı vazodilatasyonda rolü olduğu gösterilmiştir.<sup>(45)</sup> Arıcı ve ark. tarafından yapılan çalışmada amitriptilinin NO sentezini artırması mekanizmalarından birinin endotelin reseptörü ET<sub>B</sub> aktivasyonu ile olduğu bildirilmiştir. *In vivo* sıçanlarda amitriptilin zehirlenmesine bağılı oluşan hipotansiyonun 10.0 nmol/kg ET<sub>B</sub> antagonisti verilmesi sonucu engellenebildiği gösterilmiştir.<sup>(32)</sup> Kalkan ve ark. tarafından yapılan *in vivo* çalışmada ise 0.94 mg/kg/dk amitriptilin infüzyonu yapılan sıçanlarda oluşan hipotansiyon cevabının adenosin A<sub>1</sub> ve A<sub>2a</sub> reseptör inhibitörleri tarafından geri döndürüldüğü gösterilmiştir. Yine Kalkan ve ark. tarafından yapılan *in vitro* sıçan aortası çalışmasında 1.8x10<sup>-5</sup> M amitriptilin tarafından oluşturulan vazodilatasyon cevabının adenosin A<sub>2a</sub> reseptör inhibitörü tarafından geri döndürüldüğü gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre endotel ve vasküler düz kas üzerinde yerleşim gösteren adenosin A<sub>2a</sub> reseptörlerinin amitriptilinin vazodilatör mekanizmalarından biri olabileceği vurgulanmaktadır.<sup>(7, 50)</sup> Guan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *in vitro* hücre kültüründe amitriptilinin 2.5-10.0 µmol/L dozlarında, lizozomal asit sfingomiyelinazı inhibe ettiği, vasküler tüp formasyonu oluşumunu VEGF aracılı olarak inhibe ettiği ve en çok Erk1/2 olmak üzere, Akt ve eNOS fosforilasyonunu inhibe ettiği, süperoksit üretimine ise etkisi olmadığı gösterilmiştir. Sonuç olarak amitriptilinin endotelial proliferasyon ve anjiogenez üzerine olumsuz etkilerinin vasküler toksisite mekanizmalarından biri olabileceği belirtilmektedir.<sup>(6)</sup>

Amitriptilinin oluşturduğu vazodilatasyona bağılı hipotansiyon cevabının, destek tedavide kullanılan sempatomimetik ilaçlara rağmen dirençli seyretmesi, α<sub>1</sub>-adrenerjik reseptör blokajı oluşturmasının yanı sıra pek çok vazodilatasyon mekanizmasını tetikleemesinin de neden olabileceği düşünülebilir. Tedavinin etkililiğinin artırılması için bu mekanizmalara yönelik

girişimlerin uygulanması ve ilacın erken dönemde etkin olarak vücuttan uzaklaştırılabilmesi gerekmektedir. GEMNet tarafından yayınlanan 2011 rehberinde günümüzde trisiklik antidepressan zehirlenmesinde uygulanan klinik yaklaşımların ve tedavilerin kanıt düzeylerinin düşük olduğu ve tedavide etkililiği kanıtlanmış ekstrakorporeal yöntem ya da antidot seçeneği bulunmadığı bildirilmekte olup, yeni tedavi yöntemlerinin araştırılmasını gündeme getirmektedir.<sup>(4)</sup>

Amitriptilin zehirlenmesi tedavisinde mide yıkaması, yakın kardiyak monitorizasyon ve destek tedavi uygulanmaktadır. Dekontaminasyon yöntemleri olarak mide yıkaması, aktif kömür ve tüm bağırsak yıkaması yapılabilmektedir. Mide yıkamasının hava yolunun korunabildiği durumlarda, erken başvuruda (1 saat içerisinde) ve ancak çok yüksek doz alımlarda kullanılabileceği belirtilmektedir. Mide yıkamasının ilacın duodenuma geçişini ve emilimini artırabileceğini gösteren çalışma da bulunmaktadır.<sup>(53)</sup> Aktif kömür, TCA'ları bağlamakta ve serum ilaç düzeyini azaltmada başarılıdır. Ancak tekrarlayan dozlarda kullanımı önerilmemektedir. Bunun sebebi olarak antikolinergik etkiler nedeniyle ileus gelişim riski bulunması ve TCA'ların büyük sanal dağılım hacimlerinin yanında ekstrahepatik döngüye yaklaşık %15 oranında girdiği belirtilmektedir.<sup>(9)</sup> Tüm bağırsak yıkaması yapılan olgular bildirilmekle birlikte, komplikasyon gelişim riskinin yüksek olması nedeniyle, genel yaklaşım uygulanmaması yönündedir.<sup>(9)</sup>

Hipotansiyon tedavisi için ilk seçenek olarak i.v. sıvı desteği ve sodyum bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) tedavisi önerilmektedir. İlk basamak tedavinin yetersiz olması halinde vazopressör ilaçlar ile destek tedaviye devam edilmesi gerekmektedir. Vazopressör ilaçlar ile ilgili yapılan çalışmalarda epinefrinin norepinefrine oranla hipotansiyon tedavisinde daha başarılı olduğu bulunmuştur.<sup>(9)</sup> Vazopressör olarak terlipressin verilen 41 yaşında kadın hastanın kan basıncının normale döndüğünü bildiren bir olgu raporu bulunmaktadır.<sup>(54)</sup>

TCA zehirlenmelerinde antidot geliştirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bunlar arasında TCA-Fab ve intralipit uygulamaları bulunmaktadır. TCA-Fab uygulaması koyunlar üzerinde denenmiş ve bir olgu raporunda amitriptilin zehirlenmesi olgusunda kullanılmıştır. Çalışmada 4 g/kg TCA-Fab infüzyonu, desimipramin zehirlenme bulgularını kısa süreliğine engellemiş ancak sağkalım üzerine etki göstermemiştir.<sup>(55)</sup> Amitriptilin zehirlenme olgusunda ise; 48 yaşında erkek hastada toplam 14 g dozunda TCA-Fab uygulaması sonrası hastanın bulgularında gerileme olduğu bildirilmiştir.<sup>(56)</sup> İntralipit uygulamaları ile ilgili

veriler ise çelişkilidir. Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada amitriptilin serum düzeyleri üzerine lipit tedavisinin etkisi olmadığı gösterilmiştir.<sup>(57)</sup> Varney ve arkadaşları tarafından domuzlar üzerinde yapılan kontrollü çalışmada amitriptilin zehirlenme modelinde 7 mL/kg bolus ve ardından 0.25 mL/kg/dk infüzyon intralipit uygulaması ile standart sodyum bikarbonat 2 mEq/kg uygulaması arasında kardiyovasküler parametreleri düzeltme açısından fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada serum örneklerinin lipit tabakasındaki amitriptilin düzeyi ile su tabakasındaki amitriptilin düzeyi birbirine yakın bulunmuştur.<sup>(58)</sup> Tsujikawa ve ark. tarafından kobaylar üzerinde yapılan *in vivo* ve *in vitro* Langendorff izole kalp çalışmasında %0.5-4.0 lipit uygulamasının kardiyak parametreleri ve sodyum kanal blokajını, alkalinizasyondan (pH 7.55) daha başarılı olarak düzelttiği gösterilmiştir.<sup>(59)</sup> Bir amitriptilin zehirlenmesi olgu raporunda ise standart tedavi sonrası uygulanan toplam 814 ml %20 lipit tedavisinin kardiyak ve mental durum üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir.<sup>(60)</sup>

Pek çok siklodekstrin molekülü antidot olarak araştırmalarda ve klinik kullanımda yer almaktadırlar. Günümüzde klinik kullanıma girmiş bir  $\gamma$ -siklodekstrin olan sugammadeks; roküronyuma bağlı uzamış anestezi etkilerinin sonlandırılmasında kullanılmaktadır. Roküronyum ve sugammadeks arasındaki bağlanma affinitesi oldukça yüksektir.<sup>(10, 35)</sup> Sugammadeksin digoksin ve verapamil ile bağlanma affinitesinin, roküronyumun affinitesinin %1'inden düşük olmasına<sup>(61, 62)</sup> rağmen, antidot olarak kullanıldığında olumlu sonuçların alındığı çalışmalar bulunmaktadır. Özbilgin ve ark. tarafından yapılan *in vivo* sıçan çalışmasında 3 mg/saat digoksin infüzyonundan 5 dakika sonra 16 mg/kg, 100 mg/kg ve 1000 mg/kg sugammadeks bolus olarak uygulandığı, kardiyak toksisiteye bağlı asistoli gelişimine kadar geçen sürenin 1000 mg/kg sugammadeks uygulamasında geciktirildiği gösterilmiştir.<sup>(63)</sup> Özbilgin ve ark. tarafından yapılan diğer bir *in vivo* sıçan çalışmasında 37.5 mg/kg/saat verapamil infüzyonundan 5 dakika sonra 16 mg/kg, 100 mg/kg ve 1000 mg/kg sugammadeks bolus olarak uygulandığı, kardiyak toksisiteye bağlı asistoli gelişimine kadar geçen sürenin 16 mg/kg sugammadeks tarafından geciktirildiği gösterilmiştir. Ancak verapamil toksisitesinde 2-HPBCD'inin doz artışı ile birlikte toksisitede artmaya neden olduğu da belirtilmektedir.<sup>(64)</sup> Tulgar ve ark. tarafından yapılan *in vivo* sıçan çalışmasında 37.5 mg/kg/saat verapamil infüzyonundan 5 dakika sonra 16 mg/kg dozda tek başına veya %20 lipit emülsiyonu ile kombine uygulanan sugammadeksin verapamil zehirlenmesinde sağkalım süresini uzattığı rapor edilmektedir.<sup>(65)</sup>



Verapamil zehirlenme modelinde sugammadex dışında farklı siklodekstrin moleküllerinin etkililiği de araştırılmıştır. Mottram ve ark. tarafından yapılan *in vivo* sıçan çalışmasında sülfobütiler- $\beta$ -siklodekstrinin (SBE-CD) 2.25 mg/kg dozunda uygulandığında verapamil toksisitesine bağlı asistoli ve ölümü artırdığı bildirilmiştir. Ancak yine Mottram ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada *in vivo* sıçan verapamil zehirlenme modelinde farklı dozlarda (1:1, 1:2, 1:4, 1:8 molar konsantrasyon oranlarında) SBE-CD denendiği, 1:4 SBE-CD molar konsantrasyonda uygulanmasının asistoli gelişimine kadar geçen süreyi uzattığı gösterilmiştir.<sup>(40, 66)</sup> Fettiplace ve ark. tarafından yapılan izole kalp çalışmasında da %0.25 konsantrasyonda SBE-CD'nin kokaine bağlı kardiyak toksisiteyi azalttığı gösterilmiştir.<sup>(67)</sup> Bunlar dışında siklosarin, retinoik asit ve siyanür zehirlenme modellerinde de yine farklı siklodekstrin moleküllerinin toksik etkileri azaltıcı etkiler gösterdiği bildirilmektedir.<sup>(68-70)</sup>

Çalışmamızda, yüksek doz (1:20 molar oranda) 2-HPBCD inkübasyonunun, amitriptilin tarafından oluşturulan gevşeme cevabını istatistiksel olarak anlamlı şekilde geri döndürdüğü gösterildi. Düşük doz ve orta doz (1:1 ve 1:4 molar oranda) 2-HPBCD uygulamasının, amitriptiline bağlı NE kasılma cevabında meydana gelen inhibisyonu azalttığı, ancak bu etkinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu. Amitriptilin zehirlenme modelinde 2-HPBCD'nin etkisinin araştırıldığı, Aydın ve ark. tarafından yapılan *in vivo* bir çalışmada, 0.94 mg/kg/dk amitriptilin infüzyonu ile ortalama arteriyel basınçta %50 azalma sağlandıktan sonra 4.19 mg/kg/dk veya 16.76 mg/kg/dk 2-HPBCD infüzyonunun uygulandığı, 2-HPBCD uygulaması sonrası ortalama arteriyel basınç, kalp hızı, EKG'de QRS ve QT uzaması üzerine etkisinin olmadığı bildirilmektedir.<sup>(15)</sup> Bu sonucun amitriptilin ve 2-HPBCD arasındaki affinitenin yüksek olmaması, 2-HPBCD dozunun düşük olması ya da infüzyon süresinin yetersiz olması ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir.<sup>(11, 15)</sup> Verster ve Botha tarafından Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda bir organofosfat tarım ilacı olan aldikarb zehirlenmesi modelinde 2-HPBCD'in etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, sıçanlara oral 1.3-1.5 mg/kg aldikarb uygulaması öncesinde ve sonrasında intravenöz 200-250 mg/kg 2-HPBCD uygulandığı, aldikarb öncesinde 2-HPBCD uygulaması yapılan sıçanlarda sağkalım süresinin anlamlı olarak daha uzun olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, tek başına uygulanan 2-HPBCD'in toksik etkilere neden olmadığı da belirtilmektedir.<sup>(71)</sup> May ve Stewart tarafından yapılan *in vivo* koyun çalışmasında tunikamisin zehirlenme modelinde, 80 mg/kg magnezyum sülfat ve 80 mg/kg magnezyum glukonat ile kombine edilen 100 mg/kg 2-HPBCD intraperitoneal uygulamasının kilo kaybını azalttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmanın bir diğer grubunda 11

mg/kg tunikamisin ile oluşturulan zehirlenme modelinde, 200 mg/kg magnezyum sülfat ile kombine edilen 100 mg/kg 2-HPBCD intraperitoneal uygulamasının kilo kaybını azalttığı gösterilmiştir.<sup>(72)</sup>

2-HPBCD, yeni anjiogenik molekül olarak da araştırılmaktadır. Qi ve arkadaşları tarafından *in vivo* ve *in vitro* yapılan çalışmada 2-HPBCD'in  $10^{-8}$  M konsantrasyonda endotel ve vasküler düz kas hücrelerinde Akt ve Erk aracılı eNOS aktivasyonu oluşturduğu, bu sayede hem endotel hem de vasküler düz kas hücrelerinde NO aracılı vasküler proliferasyonu; yine endotel hücrelerinde NO aracılı migrasyonu tetiklediği, anjiyojenik faktör ekspresyonlarını (endotel için VEGF-A, PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1; vasküler düz kas için bFGF) artırdığı bildirilmiştir.<sup>(13)</sup> Amitriptilinin vasküler proliferasyon ve anjiogenez üzerine olumsuz etkilerinin olduğu gösterilmesiyle birlikte, 2-HPBCD'in anjiogenik etkilerinin amitriptiline bağlı gelişen toksik etkileri engelleme ve/veya geri döndürmeye katkıda bulunduğu düşünülebilir. Ancak, bu etkilerin mekanizmalarına yönelik *in vivo* ve *in vitro* deneysel araştırmalara ihtiyaç vardır.

Günümüzde TCA zehirlenmesinin tedavisinde ekstrakorporeal yöntemlerin kullanımı tartışmalıdır.<sup>(4)</sup> Ancak halen TCA zehirlenmesinde ekstrakorporeal yöntem kullanımı artış göstermektedir.<sup>(73)</sup> TCA'ların yüksek dağılım hacimleri ve proteine yüksek oranda bağlanma oranları nedeniyle serum ilaç düzeyinin azaltılması amacıyla ekstrakorporeal yöntemlerin kullanılmaları uygun değildir. Bununla birlikte özellikle aktif kömür hemoperfüzyonunun klinik düzelleme sağladığını belirten olgu serileri bildirilmektedir.<sup>(74)</sup> İki ayrı çalışmada amitriptilinin aktif kömür hemoperfüzyonu ile kandan uzaklaştırılma oranının %0.75 ve %31.0 olduğu belirtilmiştir.<sup>(75, 76)</sup> Bu sonuçlara göre farklı bağlayıcı moleküllerin kullanımı sonucu ekstrakorporeal yöntemler ile TCA eliminasyonunun artırılacağı düşünülebilir.

Siklodekstrinlerin araştırıldığı bir diğer alan, ekstrakorporeal yöntemlerle ilaç molekülünün bağlanarak atılımının artırılmasıdır. Wang ve ark. tarafından yapılan çalışmada bilirubin moleküllerinin uzaklaştırılmasında,  $\beta$ -siklodekstrin-polietilenemin kompleks molekülüne bağlanmanın plazma değişiminin etkililiğini anlamlı olarak artırdığı gösterilmiştir.<sup>(77)</sup> Perrin ve ark. sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada ise, intravenöz uygulanan fenobarbitalin periton diyalizi ile uzaklaştırılmasında  $\beta$ -siklodekstrin molekülünün olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir.<sup>(78)</sup> Literatürde 2-HPBCD'in ekstrakorporeal yöntemlerde yardımcı madde olarak ilacın atılımı üzerine etkilerini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Literatür

taramasında ulaşılan ve 2-HPBCD'nin ilaç etkilerinin azaltılmasına ilişkin çalışmaların sonuçları, 2-HPBCD'nin zehirlenmelerde ümit vaat eden yeni bir tedavi yöntemi olabileceğini düşündürmektedir. Bizim çalışmamızın sonuçları da, amitriptilin zehirlenmesinde gelişen hipotansiyonun tedavisinde 2-HPBCD'nin kullanılabilceğini düşündürmektedir. Ancak, klinik kullanıma girebilmesi için deneysel araştırmaların arttırılması ve klinik araştırmalar ile desteklenmesine ihtiyaç vardır.

Çalışmamız, 2-HPBCD molekülünün vasküler kasılma cevabı üzerine direkt etkilerinin *in vitro* incelendiği ilk çalışmadır. Ayrıca *in vitro* amitriptilin zehirlenme modelinde 2-HPBCD molekülünün etkilerinin incelendiği ilk çalışmadır, bu yönüyle özgündür. Çalışmamızda, kullanılan deney hayvanları aynı tür, cinsiyet ve benzer ağırlıklarda seçilmiş olup girişimsel uygulamalarda ve sonuçların değerlendirilmesinde standardizasyonun korunmasına özen gösterilmiştir. Ayrıca, etken maddelerin tek başına net etkilerinin değerlendirilmesinde ve mekanizmaların anlaşılabilmesi yönünden *in vivo* yöntemlere üstündür. Ancak, çeşitli kısıtlılıkları da bulunmaktadır. Çalışmamız *in vitro* aort dokusunda gerçekleştirilmiş bir araştırma olması nedeniyle, *in vivo* nörohümorale ve parakrin etkilere bağlı oluşacak fizyolojik olayları tam olarak yansıtmamaktadır. Sadece izole damar segmentlerinde kasılma-gevşeme yanıtlarına ilişkin mekanizmaların bir kısmına ilişkin fikir verebilmekte olup, rol oynayabilecek diğer mekanizmaların aydınlatılmasına ilişkin ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

## **X. SONUC**

Çalışmamızda, sıçan aortasında amitriptilinin neden olduğu ve klinikte dirençli hipotansiyon oluşum mekanizmaları arasında yer alan vazodilatasyon üzerine, 2-hidroksipropil-β-siklodekstrinin (2-HPBCD) etkisi *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. 2-HPBCD'in tek başına izole aorta kasılma cevabı üzerine etkisi bulunmadığı gösterilmiştir. Bu sonuç, literatürdeki *in vivo* çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. Amitriptilinin *in vitro* sıçan aortası üzerinde  $1.8 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonunda vasküler kasılma cevabında azalmaya neden olduğu gösterilmiş olup, *in vitro* hipotansiyon modelinin taklit edilebildiği söylenebilir. Ayrıca, 2-HPBCD'in yüksek konsantrasyonda (1:20 molar oranda), amitriptiline bağlı vasküler kasılma cevabının inhibisyonunu engellediği gösterilmiştir. 2-HPBCD'in amitriptilin zehirlenmesi tedavisinde kullanımının farklı dozlarda, farklı hayvan türlerinde ve diğer standart tedavilerin yanında yardımcı tedavi ajanı olarak deneysel ve klinik olarak araştırılması gerekmektedir. Ayrıca, amitriptilinin oluşturduğu vazodilatasyona bağlı hipotansiyonun, destek tedavide kullanılan semptomimetik ilaçlara rağmen dirençli seyrinin, pek çok vazodilatasyon mekanizmasını tetiklemesi nedeniyle olduğu bilinmektedir ve bu mekanizmaların aydınlatılması ve tedavisine ilişkin yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

## **KAYNAKLAR**

1. Khalid MM, Waseem M. Tricyclic Antidepressant Toxicity. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing (Internet); 2019 (erişim tarihi 22.08.2019)
2. Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE ve ark. 2017 Annual report of the American association of poison control centers' National Poison Data System (NPDS): 35th annual report. Clin Toxicol, 2018; 56(12): 1213-1415.
3. Kurtoğlu AP, Aktürk G, Hocaoğlu N, Yıldıztepe E ve ark. Dokuz Eylül Üniversitesi İlaç ve Zehir Danışma Merkezine 01 Ocak 2015- 31 Aralık 2016 tarihleri arasında bildirilen zehirlenmelerin değerlendirilmesi ,Türk Farmakoloji Derneği 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Trabzon, Ekim 2017, Hakemli organizasyon
4. Body R, Bartram T, Azam F, Mackway-Jones K. Guidelines in Emergency Medicine Network (GEMNet): Guideline for the management of tricyclic antidepressant overdose. Emerg Med J, 2011; 28: 347-368
5. Shannon M, Merola J, Lovejoy FH Jr. Hypotension in severe tricyclic antidepressant overdose. Am J Emerg Med, 1988; 6(5): 439-442.
6. Guan Y, Li X, Umetani M, Boini KM ve ark. Tricyclic antidepressant amitriptyline inhibits autophagic flux and prevents tube formation in vascular endothelial cells. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2018; 124(4): 370-384.
7. Kalkan S, Hocaoglu N, Akgun A, Gidener S ve ark. Effects of adenosine receptor antagonists on amitriptyline-induced vasodilation in rat isolated aorta. Clin Toxicol, 2007; 45(5): 600-604.
8. Bradberry SM, Thanacoody HR, Watt BE, Thomas SH ve ark. (2005). Management of the cardiovascular complications of tricyclic antidepressant poisoning. Toxicol Rev, 2005; 24(3): 195-204.
9. Dargan PI, Colbridge MG, Jones AL. The Management of Tricyclic Antidepressant Poisoning. Toxicol Rev, 2005;24(3): 187-194.
10. Alves QL, Camargo SB, Cruz de Jesus RL, Silva DF. Drugs-β-Cyclodextrin inclusion complex: Would be a new strategy to improve Antihypertensive Therapy? Clin Res Trials; 2019; 5: DOI: 10.15761/CRT.1000268

11. Adam JM, Bennett DJ, Bom A, Clark JK ve ark. Cyclodextrin-Derived Host Molecules as Reversal Agents for the Neuromuscular Blocker Rocuronium Bromide: Synthesis and Structure– Activity Relationships. *J Med Chem*, 2002; 45(9): 1806-1816.
12. Qi X, Yuan Y, Xu K, Zhong H ve ark. (2-Hydroxypropyl)- $\beta$ -Cyclodextrin Is a New Angiogenic Molecule for Therapeutic Angiogenesis. *PLoS ONE*, 2015;10(5): e0125323.
13. Junquera E, Romero JC, Aicart E. Behavior of tricyclic antidepressants in aqueous solution: self-aggregation and association with  $\beta$ -cyclodextrin. *Langmuir* 2001; 17(6): 1826-1832.
14. Gould S, Scott RC. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-beta-CD): a toxicology review. *Food Chem Toxicol* 2005; 43:1451-1459
15. Aydin B, Hocaoglu N, Micili SC, Ergur BU ve ark. Effects of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on cardiovascular signs of amitriptyline poisoning in a rat model. *Cardiovasc Toxicol*, 2016; 16(4): 374-380.
16. Owens DGC. A guide to the extrapyramidal side effects of antipsychotic drugs. Cambridge University Press, 1999.
17. Hillhouse TM, Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol*, 2015; 23(1): 1.
18. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. McGraw-Hill Education, 2017.
19. Flomenbaum NE. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. McGraw-Hill Education, 2006.
20. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amitriptyline#section=Pharmacology> (erişim tarihi 22.08.2019)
21. Bailey DN, Shaw RF. Interpretation of blood and tissue concentrations in fatal self-ingested overdose involving amitriptyline: an update (1978–1979). *J Anal Toxicol*, 1980; 4(5): 232-236.
22. Hurst HE, Jarboe CH. Clinical findings, elimination pharmacokinetics, and tissue drug concentrations following a fatal amitriptyline intoxication. *Clin Toxicol*, 1981;18(1): 119-125.
23. [https://s3-us-west-2.amazonaws.com/drugbank/fda\\_labels/DB00321.pdf?1519147983](https://s3-us-west-2.amazonaws.com/drugbank/fda_labels/DB00321.pdf?1519147983) (erişim tarihi 22.08.2019)
24. Micromedex® (electronic version). IBM Watson Health, Greenwood Village, Colorado, USA. <https://www.micromedexsolutions.com/> (erişim tarihi 22.08.2019)

25. Blumenthal D, Brunton LL, Buxton IL, Parker KL. Goodman & Gilman's manual of pharmacology and therapeutics, McGraw-Hill Education, 2008.
26. Salhanick SD, Traub SJ, Grayzel J. Tricyclic antidepressant poisoning. UpToDate. <http://www.uptodate.com/contents/tricyclic-antidepressant-poisoning> 2014: 1-31. (erişim tarihi 22.08.2019)
27. Liu X, Emery CJ, Laude E, Herget J ve ark. Adverse pulmonary vascular effects of high dose tricyclic antidepressants: acute and chronic animal studies. *Eur Respir J*, 2002; 20(2): 344-352.
28. Klabunde R. Cardiovascular physiology concepts, Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
29. Shryock JC, Belardinelli L. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology, and pharmacology. *Am J Cardiol* 1997; 79(12): 2-10.
30. Tuncok Y, Kalkan S, Murat N, Arkan F ve ark. The effect of the nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME on amitriptyline-induced hypotension in rats. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2002; 40(2): 121-127.
31. <https://www.cvpharmacology.com/vasodilator/alpha> (erişim tarihi 22.08.2019)
32. Arıç MAA, Buyukdeligoz M, Kalkan S, Tuncok Y. Effects of BQ-788 on amitriptyline-induced cardiovascular toxicity. *Hum Exp Toxicol*, 2013; 32(3): 316-322.
33. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (erişim tarihi 04.09.2019)
34. Stella VJ, He Q. Cyclodextrins. *Toxicol Pathol* 2008; 36(1): 30-42.
35. Abrishami A, Ho J, Wong J, Yin L ve ark. Sugammadex, a selective reversal medication for preventing postoperative residual neuromuscular blockade. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2009; 4(CD007362).
36. Folkman J, Weisz PB, Joullie MM, Li WW ve ark. Control of angiogenesis with synthetic heparin substitutes. *Science*, 1989; 243(4897): 1490-1493.
37. Strauss L, Fuenzalida M, Illanes J, Dabancens A ve ark. Effect of Sulfated  $\beta$ -cyclodextrin, a Water Soluble Cycloamylose, on the Promotion and/or Inhibition of Angiogenesis. *Pathol Oncol Res*, 2002; 8(1): 47-53.
38. Castiglione F, Ganazzoli F, Malpezzi L, Mele A ve ark. Inclusion complexes of  $\beta$ -cyclodextrin with tricyclic drugs: an X-ray diffraction, NMR and molecular dynamics study. *Beilstein J Org Chem*, 2017;13(1): 714-719.

39. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/h107?lang=en&region=TR> (erişim tarihi 04.09.2019)
40. Mottram AR, Bryant SM, Aks SE. Dose-dependent response to cyclodextrin infusion in a rat model of verapamil toxicity. *West J Emerg Med*, 2012; 13(1): 63.
41. Lau KK, Chow TYA, Chan CK, Chan YC ve ark. Hong Kong Poison Information Centre: Annual report 2017. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*, 2018;25(6): 313-323.
42. Kosovalı BD, Yıldız H. Yoğun Bakım Ünitesi'nde Takip Edilen Dört Yıllık Akut İntoksikasyon Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Intensive Care*, 2019;17(2): 75-81.
43. Brewster ME, Estes KS, Bodor N. An intravenous toxicity study of 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, a useful drug solubilizer, in rats and monkeys. *Int J Pharm*, 1990; 59: 231–243.
44. Rosseels MLA, Delaunois AG, Hanon E, Guillaume PJP ve ark. Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin impacts renal and systemic hemodynamics in the anesthetized dog. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013; 67(3): 351-359.
45. Ribback S, Pavlovic D, Herbst D, Nedeljkovic-Jancic R ve ark. Effects of amitriptyline, fluoxetine, tranylcypromine and venlafaxine on rat vascular smooth muscle in vitro—the role of the endothelium. *J Physiol Pharmacol*, 2012; 63(2): 119.
46. Scriabine A. Some observations on the adrenergic blocking activity of desipramine and amitriptyline on aortic strips of rabbits. *Experientia* 1969; 25(2): 164-165.
47. Sukenaga A, Tani E, Fukumori T, Maeda Y. Responses of isolated canine basilar artery and human platelet to chlorpromazine and amitriptyline. *Stroke* 1984; 15(2): 295-300.
48. Lü AG, Ke J, Weng SA. Inhibited effects of amitriptyline on rabbit basilar and mesenteric artery rings. *Acta Pharmacol Sin*, 1990; 11(6): 518-520.
49. Huang Y. Inhibitory effect of noradrenaline uptake inhibitors on contractions of rat aortic smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1996; 117(3): 533-539.
50. Kalkan S, Aygoren O, Akgun A, Gidener S ve ark. Do Adenosine Receptors Play a Role in Amitriptyline-Induced Cardiovascular Toxicity in Rats? *J Toxicol Clin Toxicol*, 2004; 42(7): 945-954.
51. Oransay K, Kalkan S, Hocaoglu N, Arici A ve ark. An alternative antidote therapy in amitriptyline-induced rat toxicity model: theophylline. *Drug Chem Toxicol* 2011; 34(1): 53-60.



52. Güloğlu C, Orak M, Üstündağ M, Altuncu YA. Analysis of amitriptyline overdose in emergency medicine. *Emerg Med J*, 2011; 28(4): 296-299.
53. Saetta JP, March S, Gaunt ME, Quinton DN. Gastric emptying procedures in the self-poisoned patient: are we forcing gastric content beyond the pylorus?. *J R Soc Med*, 1991; 84(5): 274-276.
54. Zuidema X, Dünser MW, Wenzel V, Rozendaal FW ve ark. Terlipressin as an adjunct vasopressor in refractory hypotension after tricyclic antidepressant intoxication. *Resuscitation*, 2007;72(2): 319-323.
55. Keyler DE, Shelver WL, Landon J, Sidki A ve ark. Toxicity of high doses of polyclonal drug-specific antibody Fab fragments. *Int J Immunopharmacol*, 1994;16(12): 1027-1034.
56. Heard K, O'Malley GF, Dart RC. Treatment of amitriptyline poisoning with ovine antibody to tricyclic antidepressants. *Lancet* 1999; 354(9190): 1614-1615.
57. Minton NA, Goode AG, Henry JA. The effect of a lipid suspension on amitriptyline disposition. *Arch Toxicol*, 1987; 60(6): 467-469.
58. Varney SM, Bebartha VS, Vargas TE, Boudreau S ve ark. Intravenous lipid emulsion therapy does not improve hypotension compared to sodium bicarbonate for tricyclic antidepressant toxicity: a randomized, controlled pilot study in a swine model. *Acad Emerg Med*, 2014; 21(11): 1212-1219.
59. Tsujikawa S, Matsuura T, Hori K, Mori T ve ark. Superior efficacy of lipid emulsion infusion over serum alkalinization in reversing amitriptyline-induced cardiotoxicity in Guinea Pig. *Anesth Analg*, 2018; 126(4): 1159-1169.
60. Kiberd MB, Minor SF. Lipid therapy for the treatment of a refractory amitriptyline overdose. *CJEM*, 2012; 14(3): 193-197.
61. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2015/022225Orig1s000ClinPharmR.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/022225Orig1s000ClinPharmR.pdf) (erişim tarihi 04.09.2019)
62. Welliver M, McDonough J, Kalynych N, Redfern R. Discovery, development, and clinical application of sugammadex sodium, a selective relaxant binding agent. *Drug Des Devel Ther*, 2008; 2: 49.
63. Ozbilgin S, Yurtlu DA, Küçükoztas B, Kamacı G ve ark. Evaluation of the Effectiveness of Sugammadex for Digoxin Intoxication: An Experimental Study. *Cardiovasc Toxicol*, 2018; 18(5): 400-406.

64. Ozbilgin S, Ozbilgin M, Kucukoztas B, Kamaci G ve ark. Evaluation of the effectiveness of sugammadex for verapamil intoxication. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2013; 113(4): 280-285.
65. Tulgar S, Kose HC, Piroglu ID, Karakilic E ve ark. Comparison of effects of separate and combined sugammadex and lipit emulsion administration on hemodynamic parameters and survival in a rat model of verapamil toxicity. *Med Sci Monit*, 2016; 22: 984.
66. Mottram AR, Bryant SM, Aks SE. Effect of cyclodextrin infusion in a rat model of verapamil toxicity. *Am J Ther* 2011; 18(5): 371-374.
67. Fettiplace MR, Pichurko A, Ripper R, Lin B ve ark. Cardiac depression induced by cocaine or cocaethylene is alleviated by lipit emulsion more effectively than by sulfobutylether- $\beta$ -cyclodextrin. *Acad Emerg Med*, 2015; 22(5): 508-517.
68. Worek F, Seeger T, Zengerle M, Kubik S ve ark. Effectiveness of a substituted  $\beta$ -cyclodextrin to prevent cyclosarin toxicity in vivo. *Toxicol Lett*, 2014; 226(2): 222-227.
69. Pitha J, Szente L. Rescue from hypervitaminosis A or potentiation or retinoid toxicity by different modes of cyclodextrin administration. *Life Sci*, 1983; 32(7): 719-723.
70. Yamagiwa T, Kawaguchi AT, Saito T, Inoue S ve ark. Supramolecular ferric porphyrins and a cyclodextrin dimer as antidotes for cyanide poisoning. *Hum Exp Toxicol*, 2014; 33(4): 360-368.
71. Verster RS, Botha CJ. Evaluation of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in the treatment of aldicarb poisoning in rats. *J S Afr Vet Assoc*, 2004;75(4): 182-185.
72. May C, Stewart PL. Development of a toxin-binding agent as a treatment for tunicamyluracil toxicity: protection against tunicamycin poisoning of sheep. *Aust Vet J*, 1998; 76(11): 752-756.
73. Lavergne V, Hoffman RS, Mowry JB, Cormier M ve ark. Why are we still dialyzing overdoses to tricyclic antidepressants? A subanalysis of the NPDS database. *Semin Dial*, 2016; 29(5), 403-409.
74. Bek K, Oezkaya O, Mutlu B, Dağdemir A ve ark. Charcoal haemoperfusion in amitriptyline poisoning: experience in 20 children. *Nephrology*, 2008;13(3): 193-197.
75. Comstock TJ, Watson WA, Jennison TA. Severe amitriptyline intoxication and the use of charcoal hemoperfusion. *Clin Pharm* 1983; 2(1): 85.
76. Dönmez O, Cetinkaya M, Canbek R. Hemoperfusion in a child with amitriptyline intoxication. *Pediatr Nephrol*, 2005; 20(1): 105-107.

77. Wang Z, Cao Y, Wei H, Jia L ve ark. Bilirubin adsorption properties of water-soluble adsorbents with different cyclodextrin cavities in plasma dialysis system. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012; 90: 248-253.
78. Perrin JH, Field FP, Hansen DA, Mufson RA ve ark. Beta-Cyclodextrin as an aid to peritoneal dialysis. Renal toxicity of beta-cyclodextrin in the rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 1978; 19(2): 373-376.

