Orhan ERKAN

DOKTORA TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

ATİPİK ANTİPSİKOTİK KETİAPİNİN SIÇAN KARDİYOMİYOSİTLERİ ÜZERİNE AKUT ETKİSİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI

Orhan ERKAN

DOKTORA TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

ATİPİK ANTİPSİKOTİK KETİAPİNİN SIÇAN KARDİYOMİYOSİTLERİ ÜZERİNE AKUT ETKİSİNİN ELEKTROFİZYOLOJİK YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI

Orhan ERKAN

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semir ÖZDEMİR

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2020-5323 proje numarası ile desteklenmiştir.

"Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir"

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyofizik Anabilim Dalı Biyofizik Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 24.10.2023

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Semir ÖZDEMİR
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Nazmi YARAŞ
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Coşkun USTA
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Figen ÇİÇEK
Çukurova Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Yusuf OLĞAR
Ankara Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ……/……./…….... tarih ve ……/…….. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Melike CENGİZ

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Öğrenci
ORHAN ERKAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Semir ÖZDEMİR

TEŞEKKÜR

Doktora hayatım boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, anlayışını sevgisini ve desteğini her zaman hissettiğim, kendisiyle çalışmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semir ÖZDEMİR'e,

Doktora sürecimde yoğun iş yüküne rağmen deneylerimin yapılmasından tezimin yazım süreci tamamlanana kadar hiçbir zaman desteğini eksik etmeyen, tüm sorunları çözme konusunda her zaman yanımda olan Sayın Doç. Dr. Nihal ÖZTÜRK ERBOĞA'ya,

Tez izleme komitesinde yer alan bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik eden ve yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. Nazmi YARAŞ ve Sayın Prof. Dr. Coşkun USTA'ya,

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Biyofizik Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarım Prof. Dr. Murat CANPOLAT ve Prof. Dr. Narin DERİN'e,

Doktora eğitimimin ilk gününden itibaren üzerimdeki desteğini hiçbir zaman unutmayacağım değerli arkadaşım Assist. Prof. Dr. Enis HİDİŞOĞLU'na,

Manevi desteğini her zaman hissettiğim değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Ekrem YAŞAR ve Arş. Gör. Dr. Mustafa MUNZUROĞLU, Öğr. Üyesi. Tanju MERCAN ve Erol NİZAMOĞLU'na,

Bugünlere gelmemde emeğini asla ödeyemeyeceğim, benim için her türlü fedakarlığı yapan saygıdeğer annem ve babam ve her zaman yanımda olan kardeşlerime,

Sevgisini hayatımın her anında hissettiğim, sabırla beni destekleyen, koşulsuz olarak her zaman yanımda olan sevgili eşim Burcu ERKAN'a,

Doktora yeterlilik sınavından sonra dünyaya gelen ve tez deneylerim sürecinde yoğun bir deney yüküne sahip babaya katlanıp müsaade eden, bu süreçte bütün yorgunluğumu alan canım kızım Dora ve oğlum Sedat Kağan'a,

sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Atipik antipsikotik ketiapin (Ket) ve aktif metaboliti norketiapinin (Nket) kardiyovasküler sistem üzerinde yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda Ket ve Nket'in akut uygulamasının ventrikül miyositlerinin kasılması, aksiyon potansiyeli (AP) ve iyonik akımları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Deneyler Wistar türü erkek sıçan kalbinden izole edilen ventrikül miyositlerinde gerçekleştirildi. 10 μM'lik düşük konsantrasyon ve 100 μM'lik yüksek konsantrasyon olmak üzere iki farklı konsantrasyonda Ket ve Nket kullanıldı. İzole ventrikül miyositlerinde fraksiyonel kısalmalar, AP, L-tipi Ca^{+2} akımları, K^+ akımlar kaydedildi.

Bulgular: Hem Ket hem de Nket uygulaması kontrol değerlerine (Kon) kıyasla fraksiyonel kısalma miktarlarının konsantrasyona bağlı olarak azaldığı bulundu. AP kayıtlarında Ket uygulaması sonrası özellikle AP repolarizasyon evresinin erken fazında uzama gözlenirken Nket uygulaması sonrası repolarizasyon evresinin tamamında uzama tespit edildi. Yüksek dozda (100 μM) Ket ve Nket uygulaması AP genliğini frekansa bağlı olarak belirgin şekilde azaltırken, yüksek frekansta AP hiç tetiklenmedi. L-tipi Ca^{+2} akımları hem Ket hem de Nket uygulaması sonrası anlamlı olarak baskılandı. Geçici dışa doğru K^+ akımlarında (I_{to}) ve kararlı-durum K^+ akımlarında (steady-state; I_{ss}) azalma gözlendi. Özellikle yüksek doz Ket uygulaması Ca^{+2} reaktivasyon kinetiklerini yavaşlatırken yüksek doz Nket uygulaması K^+ inaktivasyon kinetiklerini daha negatif potansiyellere kaydırdığı gösterildi.

Sonuç: Ket ve Nket'in kalpte negatif inotropik etkiye sahip olduğu ve ayrıca I_{CaL} ve I_{to}'ı baskılayarak APD'yi uzattığı ve bunun sonucu olarak kardiyomiyositlerin hem elektriksel hem mekanik özelliklerini etkilediği gösterildi. Elde ettiğimiz sonuçlar ketiapin ile tedavi edilen hastalarda gözlenen QT uzamasının altında yatan iyonik mekanizmaları hücresel düzeyde açıklamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antipsikotik, ketiapin, norketiapin, kasılma, iyon kanalları

ABSTRACT

Objective: The atypical antipsychotic quetiapine (Ket) and its active metabolite norquetiapine (Nket) have been known to have side effect on the cardiovascular system. In our study, it was aimed to determine the effects of acute application of Ket and Nket on contractile activity, action potential (AP) and ionic currents of ventricular myocytes.

Method: Experiments were performed in ventricular myocytes isolated from male Wistar rat hearts. Two different concentrations of Ket and Nket were used: a low concentration of 10 μM and a high concentration of 100 μM. Fractional shortening, AP, Ca^{+2} currents, and K^+ currents were recorded in isolated ventricular myocytes.

Results: Ket and Nket application decreased the fractional shortening depending on the concentration compared to the Control (Kon) values. In AP recordings, a prolongation was observed especially in the early phase of the AP repolarization phase after Ket application, while a prolongation was detected in the entire repolarization after Nket application. Application of high doses of Ket and Nket (100 μM) significantly reduced the AP amplitude in a frequency-dependent manner, whereas AP was not triggered at high frequency. Not only L-type Ca^{2+} currents but also transient outward K^+ currents (I_{to}) and steady-state K^+ currents (I_{ss}) were significantly suppressed after both Ket and Nket administration. Moreover high dose Ket application slows down Ca^{2+} reactivation kinetics, while Nket application at high dose shifts only K^+ inactivation kinetics to more negative potentials.

Conclusion: Ket and Nket have been shown to have a negative inotropic effect on the heart and also prolong APD by suppressing I_{CaL} and I_{to}, consequently affecting both the electrical and mechanical properties of cardiomyocytes. Our results explain the ionic mechanism underlying the QT prolongation observed in quetiapine-treated patients at the cellular level.

Keywords: Antipsychotic, quetiapine, norquetiapine, contraction, ion channels

İÇİNDEKİLER

ÖZET i

ABSTRACT ii

İÇİNDEKİLER iii

TABLOLAR DİZİNİ v

ŞEKİLLER DİZİNİ vi

SİMGELER ve KISALTMALAR viii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Kalbin Yapısı ve Görevi 3

2.2. Kalpte Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi 7

2.3. Antipsikotik İlaçlar 9

2.3.1. Antipsikotik İlaçların Tanımı ve Önemi 9

2.3.2. Antipsikotik İlaçların Sınıflandırılması 9

2.3.3. Tipik Antipsikotikler 9

2.3.4. Atipik Antipsikotikler 11

2.3.5. Atipik Antipsikotiklerin Etki Mekanizması 11

2.4. Ketiapin 12

2.4.1. Etki Mekanizması 13

2.5. Norketiapin 17

2.6. Antipsikotiklerin Yan Etkileri 18

2.7. Ketiapin Kardiyovasküler Yan Etkileri 18

2.7.1 Ketiapin ve Kan Basıncı 18

2.7.2 Ketiapin ve Ani Ölüm 18

2.7.3.Ketiapin QT İlişkisi 19

2.8. Ketiapinin İyon Kanalları Üzerine Etkileri 20

3. GEREÇ ve YÖNTEM 22

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması 22

3.2. Kardiyomiyosit İzolasyonu 22

3.3. Kasılma Parametrelerinin Ölçülmesi 23

3.4. Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi 23
3.5. L-Tipi Ca^{2+} Akımlarının Kaydedilmesi 24
3.6. K^{+} Akımlarının Kaydedilmesi 25
3.7. Kullanılan Kimyasallar 27
3.8. İstatistiksel Analiz 27

4. BULGULAR 28
4.1. Doz Yanıt Eğrisinin Oluşturulması 28
4.2. Kasılma Parametreleri 28
4.3. Aksiyon Potansiyeli 32
4.4. Ca^{+2} Akımları 36
4.5. Potasyum Akımları 42
4.6. Ket ve Nket'in Etki Mekanizması 48
4.6.1. PLC Üzerine Etkisi 48
4.6.2. Serotonin 2A Reseptörünün Rolü 49

5. TARTIŞMA 50

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 61

KAYNAKLAR 62

ÖZGEÇMİŞ 76

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Ket ve Nket'in bağlanma afiniteleri. 15

Tablo 4.1. Sol ventrikül miyositlerinden elde edilen AP parametrelerine Ket ve Nket'in etkileri. 33

Tablo 4.2. Ket ve Nket varlığında kaydedilen Ca^{+2} akım yoğunluğu ve kinetik parametreleri. 40

Tablo 4.3. Ket ve Nket varlığında kaydedilen I_{to} akım yoğunluğu ve kinetik parametreleri. 47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Ventrikül AP ve karşılık gelen iyon akımları.	6
Şekil 2.2.	Kardiyomiyositlerde uyarılma-kasılma çiftleniminin şematik gösterimi.	8
Şekil 2.3.	Ket'in kimyasal yapısı.	13
Şekil 2.4.	Ket ve Nket'in bağlanma profili.	14
Şekil 2.5.	Ket ve Nket'in bağlanma afiniteleri.	15
Şekil 2.6.	Nket'in kimyasal yapısı.	17
Şekil 4.1.	Farklı dozlarda Ket ve Nket uygulamasının I_{CaL} üzerine etkisi.	28
Şekil 4.2.	Ket kasılma parametreleri.	30
Şekil 4.3.	Nket kasılma parametreleri.	31
Şekil 4.4.	Ket uygulama sonrası 1 Hz uyarı frekansında ölçülen AP parametreleri.	32
Şekil 4.5.	Nket uygulama sonrası 1 Hz uyarı frekansında ölçülen AP parametreleri.	33
Şekil 4.6.	Farklı frekanslarda uyarılan hücrelerde ölçülen AP'nin karakteristiklerine yüksek konsantrasyonda Ket ve Nket'in etkisi.	34
Şekil 4.7.	Farklı frekanslarda uyarılan hücrelerde ölçülen AP'nin tepe değerlerine Ket ve Nket'in etkisi.	35
Şekil 4.8.	Ket ve Nket'in I_{CaL}'nin potansiyel-akım ilişkisine etkisi.	37
Şekil 4.9.	Ket ve Nket'in LTCC akım kinetiklerine etkisi.	38

Şekil 4.10. LTCC'den hücre içine giren Ca^{+2} miktarının Ket ve Nket uygulamasına bağlı değişimi. 39

Şekil 4.11. Ket ve Nket'in Ca^{+2} inaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. 40

Şekil 4.12. Ket ve Nket'in Ca^{+2} reaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. 41

Şekil 4.13. I_{to}'nun potansiyele bağlı değişimi üzerine Ket ve Nket'in etkisi. 43

Şekil 4.14. I_{ss}'nin potansiyele bağlı değişimi üzerine Ket ve Nket'in etkisi. 44

Şekil 4.15. Ket ve Nket'in K^+ kanallarının kapanma kinetiklerine etkisi. 45

Şekil 4.16. Ket ve Nket'in K^+ inaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. 46

Şekil 4.17. Ket ve Nket'in K^+ reaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. 47

Şekil 4.18. U73122 varlığında Nket'in I_{CaL} üzerine etkisi. 48

Şekil 4.19. M100907 varlığında Nket'in I_{CaL} üzerine etkisi. 49

SİMGELER ve KISALTMALAR

5HT : Serotonin

5HT2A : Serotonin 2A

AP : Aksiyon Potansiyeli

APD : Aksiyon Potansiyeli Süresi

ATP : Adenozin Trifosfat

AV : Atrioventriküler

Ca^{+2} : Kalsiyum

$[Ca^{+2}]_i$: İntrasellüler Serbest Kalsiyum Seviyesi

CICR : Ca^{+2} Uyarımlı Ca^{+2} Salımı

DMP : Dinlenim Membran Potansiyeli

DMSO : Dimetil sülfoksit

EKG : Elektrokardiyografi

EPS : Ekstrapiramidal Semptomlar

EAD : Erken Ard Depolarizasyon

FDA : Amerika Gıda ve İlaç İdaresi

hNav1.5 : İnsan Kardiyak Na^+ Kanalları

IC_{50} : %50 İnhibitör Konsantrasyon

I_{CaL} : L-tipi Ca^{+2} akımları

I_K : K^+ Akımları

I_{K1} : İçeri Doğrultucu (İnward Rectifier) K^+ Akımları

I_{Kr} : Gecikmiş-Doğrultucu (Delayed Rectifier) Hızlı K^+ Akımı

I_{Ks} : Gecikmiş-Doğrultucu Yavaş K^+ Akımı

I_{Na} : Sodyum Akımları

IP_3 **:** Inositol Trifosfat

I_{ss} : Kararlı Durum (Steady- State) Akımı

I_{to} : Geçici Dışarı Doğru (Transient Outward) K^+ Akımı

K^+ : Potasyum

Ket : Ketiapin

LTCC : L-tipi Ca^{+2} kanalları

Na^+ : Sodyum

NCX : Na^+/Ca^{+2} Değiştokuşçusu

NET : Norepinefrin Taşıyıcı

Nket : Norketiapin

PET : Pozitron Emisyon Tomografisi

PLB : Fosfolamban

PLC : Fosfolipaz C

RyR : Ryanodin Reseptörü

SA : Sinoatriyal

SERCA : Sarkoplazmik Retikulum Ca^{+2}-ATPaz

SDA : Serotonin-Dopamin Antagonistleri

SR : Sarkoplazmik Retikulum

TdP : Torsades de Pointes

QTc : Düzeltilmiş QT

1. GİRİŞ

Antipsikotik ilaçlar halüsinasyon ve delüzyon gibi psikoz semptomlarını azaltmak veya kontrol altında tutmak için uzun zamandır yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle şizofreni ve bipolar bozukluk gibi nöropsikiyatrik rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığı gibi tedaviye dirençli depresyon, uyku bozukluğu, obsesif kompulsif bozukluk gibi psikiyatrik rahatsızlıkların tedavisinde de endikasyon dışı olarak kullanılmaktadır (Meltzer ve ark., 1989). Antipsikotik ilaçlar tipik ve atipik antipsikotikler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Tipik antipsikotik ilaçların dopamin reseptörlerine afinitesi çok yüksektir ve beyindeki tüm dopamin reseptörlerini bloke ederler (Seeman, 2002). Bu etki ilk bakışta tedavi edici olarak düşünülse de çeşitli yan etkilerin ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir. Şizofreninin pozitif semptomlarının tedavisinde önemli bir adım olarak kullanılan tipik antipsikotiklerin parkinson, diskinezi, akatizi gibi ekstrapiramidal semptomları (EPS) arttırdığı çok geçmeden anlaşılmıştır (Nemeroff ve ark., 2002) (Calderone ve ark., 2005). Yeni geliştirilen atipik antipsikotiklerin (tipiklerden farklı olarak) sadece dopamin reseptörlerine değil serotonin reseptörlerine de afiniteleri yüksektir. Bu etki EPS'yi azaltarak yan etkilerin daha da azalmasına neden olmaktadır (Farah, 2005). Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylı atipik antipsikotik ilaçlardan biri olan ketiapin (Ket), günümüzde şizofreni, akut manik epizodlar ve majör depresif bozukluk tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (McIntyre ve ark., 2005; Evoy ve ark., 2019). Ayrıca endikasyon dışı olarak uykusuzluk, anksiyete, demans gibi birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır (McKean ve Monasterio, 2012; El-Saifi ve ark., 2016). Karaciğer tarafından çeşitli metabolitlere dönüştürülen Ket'in en önemli aktif metaboliti norketiapindir (Nket). Kimyasal yapıları benzer olsa da Ket ve diğer atipik antipsikotiklerden farkı bir farmakolojik profile sahiptir (Cross ve ark., 2016). Yeni geliştirilen antipsikotikler EPS ve diskinezi riskini azaltmasına rağmen geniş reseptör bağlanma profiline sahip olmaları farklı yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Sürekli uyku hali, ortostatik hipotansiyon ve baş dönmesi en sık rastlanan yan etkileri arasında gösterilmektedir (Bergman ve ark., 2017). Ayrıca kilo alımı, lipid metabolizması bozukluğu, sinüs taşikardi, miyokardit, kardiyomiyopati ve düzeltilmiş QT (QTc) aralığının uzaması gibi kardiyovasküler risklerin artışına neden olduğu bilinmektedir

(Solmi ve ark., 2017). 2011 yılında FDA, Ket'in QT aralığında uzamaya sebebiyet verdiği ve Torsades de pointes (TdP) riski oluşturabileceği konusunda bir uyarıda bulunmuştur. Astra Zeneca sınıf 1-A antiaritmikler, sınıf 3 antiaritmikler, antipsikotik ilaçlar, belirli antibiyotikler ve yüksek dozda Ket kullanımı, diğer QT aralığını uzattığı bilinen ilaçlar ile beraber kullanıldığında QTc aralığını önemli ölçüde etkilediğini bildirmiştir (AstraZeneca Pharmaceuticals, 2013). Fakat uyarıda Ket'in monoterapi veya QTc riski taşımayan hastalarda bu aralığı nasıl etkilediği konusunda herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Ket'in QTc aralığına etkisi üzerine yapılan çalışmalarda birbiriyle çelişen veriler bulunmaktadır. QTc aralığının uzadığını gösteren çalışmaların yanında değişmediğini gösteren çalışmalarda mevcuttur (Goodnick ve ark., 2002; Harrigan ve ark., 2004; Hough ve ark., 2011; Potkin ve ark., 2013; Hasnain ve ark., 2014). İnsan elektrokardiyogramındaki QT aralığı ventrikül hücrelerinin depolarizasyon ve repolarizasyon sürelerinin toplamını yansıtır. AP süresinde meydana gelebilecek değişimler bu aralığı etkileyecektir. Bu nedenle Ket ve Nket'in iyonik akımlar üzerine olan etkisinin bilinmesi, AP'de meydana gelen değişimleri açıklamamıza ve potansiyel bir aritmojenik riske sahip olup olmadığı konusunda bilgi sahibi olmamıza imkan sunacaktır. Literatürde Ket ve Nket'in iyonik akımlar üzerinde direk etkisinin olduğu; hERG akımlarını bloke ederek AP süresini uzattığı gözlenirken (Lee H. J. ve ark., 2018), diğer yandan insan kardiyak Na^+ kanallarını ($hNa_v1.5$) bloke ederek AP süresini kısalttığı gösterilmiştir (Kim ve ark., 2020). Çalışmamız hem bu türden birbiriyle tutarlı olmayan sonuçlarla ilişkili belirsizliklerin giderilmesi hem de literatürdeki bu maddelerin kardiyak etkilerine ilişkin diğer eksikliklerin tamamlanması için tasarlanmıştır. Antipsikotiklerin kardiyovasküler sistem üzerine etkilerinin detaylı olarak bilinmesi, bilinen yan etkilerin mekanizmalarının tespiti ve önlenmesine yönelik tedbirlerin bilinmesi için yeni bir adım olacaktır. Çalışmamızda, Ket kullanımı sonrası QT aralığında meydana gelen değişimin detaylı olarak açıklanabilmesi için; i) Ket ve Nket'in kalbin uyarılma-kasılma çiftlenimine ii) kalp hücrelerinde hem elektriksel uyarının iletiminde hem de kasılmada önemli rol oynayan Ca^{+2} akımları üzerine, iii) AP süresinin belirlenmesinde önemli rol oynayan K^+ akımlarının ve kanal kinetiklerinin karakteristiklerine etkilerinin detaylı olarak incelenmesi, ve iv) Ca^{+2} akımlarındaki muhtemel değişimin hangi fizyolojik yolaktan gerçekleştiğinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalbin Yapısı ve Görevi

Kalbimiz, vücudumuzdaki tüm dokulara kanın ulaşmasını sağlayan hayati öneme sahip bir organdır. Konum olarak akciğerlerin arasında, göğsün orta bölmesinde yaklaşık olarak bir yumruk büyüklüğünde kaslı bir yapıya sahiptir. İki atriyum, iki ventrikül olmak üzere dört odadan oluşur. Hem atriyumları hem de ventrikülleri birbirinden ayıran kas yapısında duvarlar bulunmaktadır. Bu duvar sayesinde akciğerlere giden ve gelen kan birbiriyle karışmaz. Ana görevi vücuda kanı pompalamak olan kalbimizin, aynı zamanda metabolizma sonucu oluşan atık ürünlerin vücuttan atılması, CO_2'nin vücuttan uzaklaştırılması, hormonlar ve enzimlerin salgılandıktan sonra vücudun ilgili yerlerine ulaştırılması, vücut sıcaklığının düzenlenmesi, asit-baz dengesinin korunması gibi görevleri de vardır. Tüm bu işlemleri yerine getirmek için pulmoner ve sistemik dolaşımı kullanır (Hall ve ark., 2020).

Otonom sinir sistemi kontrolü altında olan kalbimizin kasılması sağ atriyumun üst duvarında bulunan sinoatriyal düğüm (SA) adı verilen özelleşmiş hücre topluluğundan başlar. Bu hücre grubunda bulunan kanallar sayesinde oluşan akımlar (I_f akımları) spontan olarak depolarizasyon oluştururlar ve ortalama dakikada 70-80 adet AP üretme kapasitesine sahiptirler (Nerbonne ve Kass, 2005; Wahl-Schott ve ark., 2009). SA'dan başlayan uyarının yayılması kalbin sinsityum fonksiyonu için oldukça önemlidir (Issa ve ark., 2012). Uyarının hücreden hücreye hızlı bir şekilde yayılması hücreler arası bağlantılar sayesinde gerçekleşir. Gedik kavşaklar adını verdiğimiz bu bağlantılar, hem miyositler arasında güçlü bir mekanik bağlantı hem de AP'nin hızlı iletilmesine izin veren düşük dirençli bir yol olarak hizmet ederler. Böylelikle iletim çok hızlı bir şekilde tüm kalp boyunca yayılır. SA düğümden başlayan uyarı öncelikle sağ atriyum boyunca internodal yollar aracılığıyla yayılarak atriyoventriküler düğüme (AV) ulaşır ve burada uyarı yaklaşık 0.16 s geciktirilir. Bu gecikme uyarı ventriküle geçmeden önce atriyumların kasılmasını ve kanın ventriküllere pompalanmasını sağlar. Daha sonra depolarizasyon dalgası His demeti ve purkinje lifleri boyunca yayılarak ventrikül hücrelerinin de

senkronize bir şekilde kasılmasına neden olur (Hall ve ark., 2020). Böylelikle kan pulmoner arter ve aorta pompalanır.

AP'nin morfolojik yapısı canlı türüne ve kalp bölgesine (atriyum, ventrikül gibi) bağlı olarak farklılık gösterir. Aynı bölgede (endokardiyum, epikardiyum) farklı morfolojik yapılara sahip AP'ler gözlenebilir (Michael ve ark., 2009). Bu farklılıklar o bölgedeki iyon kanalları farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

Genel olarak baktığımızda kalpte AP beş fazdan (0-4 faz) oluşmaktadır. Her bir fazdan farklı iyon kanalları sorumludur. Şekil 2.1'de ventrikül AP ve karşılık gelen iyon akımları detaylı olarak gösterilmektedir. AP'nin hızlı depolarizasyon evresi olarak adlandırılan Faz 0'dan Na^+ kanalları sorumludur. Bir uyarı sonucu membran potansiyeli eşik değere ulaştığı zaman bu kanallar çok hızlı bir şekilde açılır ve 1-2 ms boyunca Na^+ kanalları açık kalır. Bu kanalların aktivasyonu hem elektriksel hem de kimyasal gradyan boyunca Na^+ iyonunun hücre içerisine girmesine izin verir. Membran potansiyeli negatif değerlerden yaklaşık +40 mV civarlarına yükselerek Na^+ denge potansiyeline yaklaşır ve hızlı depolarizasyon gerçekleşir. Daha sonra Na^+ kanalları inaktivasyon durumuna geçer ve böylece belli bir süre için yeni bir AP oluşması engellenir. Tekrar bu kanalların açılıp yeni bir AP oluşturması için kanalın inaktivasyon durumundan kurtulması gerekmektedir. L-tipi Ca^{+2} kanallarından (LTCC) giren Ca^{+2} iyonları da bu evrede küçük depolarize edici etkiye sahiptir.

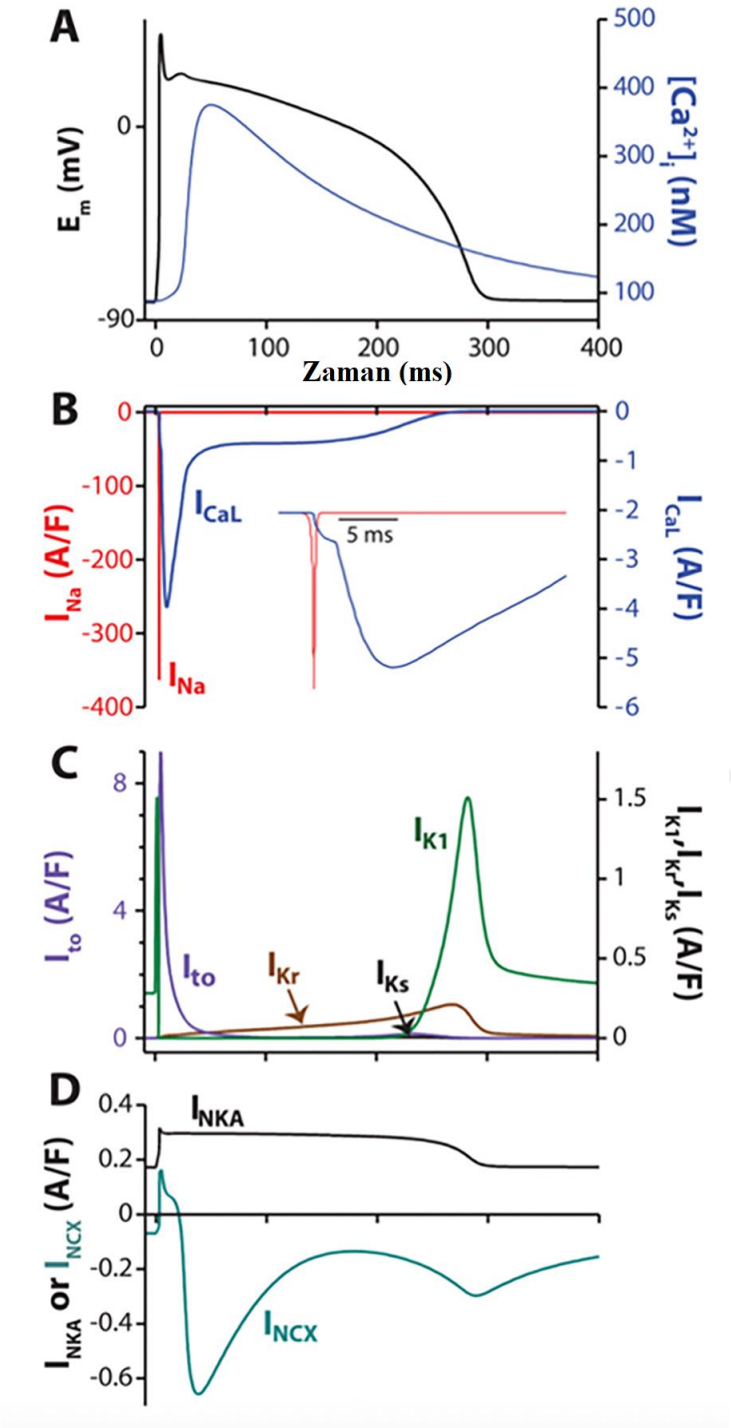
Na^+ kanallarının hızlı inaktivasyonunun ardından Faz 1 olarak adlandırılan erken repolarizasyon evresinde geçici dışarı doğru K^+ akımları (I_{to}) ve Na^+/Ca^{+2} değiştokuşçusu (NCX) akımları görev almaktadır (Janvier ve Boyett, 1996). Bu akımların kombinasyonu AP'de çentik (notch) denilen küçük bir repolarizasyona neden olmaktadır (Klabunde, 2011).

Faz 2, AP'nin plato fazı olarak adlandırılır ve bu plato fazı kalp hücresinde meydana gelen AP'yi diğer AP'lerden ayıran en temel özelliktir. Bu fazda membran potansiyeli yaklaşık 100 ms dengede seyreder. Bunun nedeni bir yandan gecikmiş Na^+ akımları (I_{Na}) ile beraber hücre içerisine giren Ca^{+2} akımları (I_{CaL}) diğer yandan hücre dışına çıkan K^+ akımlarının (I_K) birbirini dengeliyor olmasıdır. Faz 0'ın sonlarına doğru açılan LTCC,

sarkoplazmik retikulum (SR) üzerinde bulunan riyanodin (RyR) reseptörüne bağlanarak SR'dan daha fazla Ca^{+2} çıkışına neden olur. Bu Ca^{+2} ayrıca kalbin kasılmasından sorumludur (Amin ve ark., 2010).

Faz 3 hücrenin dinlenim durumuna doğru hareket ettiği repolarizasyon evresi olarak adlandırılır. Bu evrede Na^{+} ve Ca^{+2} kanalları inaktif hale gelir ve faz 2 sürecinde aktif hale gelen I_K baskın hale gelerek repolarizasyon sürecini oluşturur. K^{+} geçirgenliğinin artması dinlenim membran potansiyelini (DMP) K^{+} denge potansiyeline doğru hareket ettirir ve AP'nin repolarizasyonunda önemli rol oynar. Hızlı gecikmiş doğrultucu K^{+} akımları (I_{Kr}) ve yavaş gecikmiş doğrultucu K^{+} akımları (I_{Ks}) olmak üzere iki farklı K^{+} akımı bu süreçte görev alır. Repolarizasyon evresinin sonlarına doğru I_{Kr} ve I_{Ks} akımları azalır ve içeri doğrultucu (inward rectifier) K^{+} akımları (I_{K1}) baskın hale gelir. Negatif membran potansiyellerinde I_{K1} geçirgenliğinin artması hücreyi DMP seviyelerinde tutmada önemli rol oynar. Bu kanallar depolarizasyon ile kapanır ve negatif potansiyel seviyesinde tekrar aktif hale gelirler. Adenozin trifosfat (ATP) ile aktive olan K^{+} kanal akımları ve asetilkolin tarafından aktive edilen K^{+} kanalları da repolarizasyon evresinde ve hücreyi DMP seviyesinde tutmada ayrıca rol oynamaktadır (Amin ve ark., 2010).

Repolarizasyon evresinin bittiği hücrenin dinlenim seviyesine ulaştığı evreye faz 4 evresi denir ve diyastol evresi olarak da adlandırılır. DMP, membranda bulunan farklı iyon pompaları tarafından oluşturulan iyon akışının yanı sıra hücre içerisine giren ve hücre dışına çıkan iyonların dengede olması sonucu oluşur. DMP, -70 ile -90 mV arasında değişiklik gösterebilir. Bu fazda membranın sızıntı kanalları yoluyla K^{+} iyonuna geçirgenliği çok yüksektir. Bu nedenle DMP, K^{+} denge potansiyeline yakındır (Luo ve Rudy, 1991).

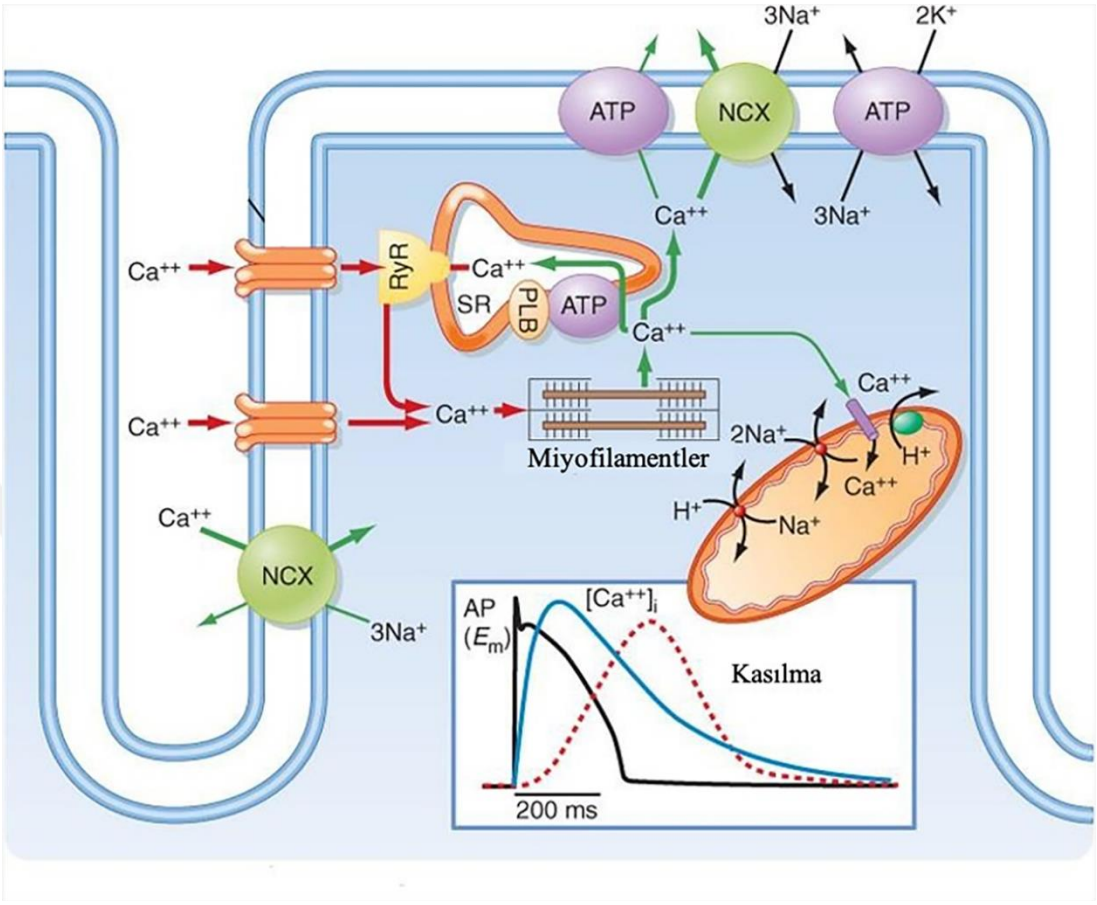


Şekil 2.1. Ventrikül AP ve karşılık gelen iyon akımları. A) Ventriküler AP'nin temsili şekli (siyah) ve hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu değişimi (mavi), B) Depolarize edici Na^+ (I_{Na}, kırmızı) ve Ca^{+2} (I_{Ca}, mavi) akımları, C) Plato ve repolarizasyondan sorumlu K^+ akımları (I_{to}, mor; I_{Kr}, kahverengi; I_{Ks}, siyah; I_{K1}, yeşil), D) Na^+/Ca^{+2} değiştokuşçusu (I_{NCX}, turkuaz) ve Na^+/K^+ pompasının (I_{NKA}, siyah) davranışı gösterilmektedir. Şekil (Bartos ve ark., 2015) referansından revize edilerek hazırlanmıştır.

2.2. Kalpte Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi

Kas liflerinde AP'nin oluşmasından kalbin kasılmasına kadar geçen olayların tamamına kardiyak uyarılma-kasılma çiftlenimi adı verilir (Şekil 2.2). Kardiyak AP sırasında Na^{+} iyonlarının hücre içine girmesiyle hızlı bir depolarizasyon gerçekleşir. Membran potansiyelinde meydana gelen artış, depolarizasyon ile aktive olan Ca^{+2} kanallarının açılmasına ve hücre içerisine hızlı bir şekilde Ca^{+2} girişine neden olur (Santana ve ark., 2002; Chakraborti ve ark., 2007). Hücre içerisinde bulunan Ca^{+2} depoları üzerindeki RyR reseptörleri hücre içerisine giren düşük miktarda Ca^{+2} ile uyarılır. SR'dan Ca^{+2} salınımına neden olan bu olaya "Ca^{+2} uyarımlı Ca^{+2} salımı" (CICR) denir (Fabiato ve ark., 1979; Bers, 2002). Ca^{+2}'nın troponin C'ye optimal bağlanması ve kasılmanın başlatılabilmesi için sitozolik Ca^{+2} miktarında yaklaşık olarak 100 nM seviyesinden 1 μM seviyesine hızlı bir artış gerçekleşir (Carafoli ve ark., 2001). Artan Ca^{+2} miktarı sonrası, Ca^{+2} iyonları sarkomerdeki troponin C'ye bağlanarak troponin-tropomiyozin kompleksinde konformasyonel değişime neden olur. Bu değişim tropomiyozinin, aktin- miyozin bağlanmasını inhibe eden pozisyondan ayrılmasına ve aktin ile miyozinin birbirine bağlanması sonucu, çapraz köprülerin oluşmasına neden olur. Miyozin başı aktin flamentini hareket ettirerek sarkomer boyunun kısalmasına neden olur ve böylece kasılma gerçekleşir. Bu çapraz köprü döngüsü Ca^{+2} konsantrasyonunun yüksek olduğu ve Ca^{+2}'un troponin C'ye bağlı olduğu sürece devam eder (Bers, 2002).

Relaksasyonun gerçekleşmesi için hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonun azalması ve Ca^{+2} iyonunun troponin C'den ayrılması gerekmektedir. Hücre içi ortamdan Ca^{+2} ayrılması 4 farklı yol ile gerçekleşir. i) Aktivitesi fosfolamban (PLB) ile düzenlenen SR Ca^{+2}-ATPaz (SERCA), Ca^{+2} iyonlarının yaklaşık %70'inin geri alınmasından sorumludur. ii) Yaklaşık %28'lik kısmı NCX aracılığıyla hücre dışına atılır. iii) Geri kalan küçük miktar ise plazma membranı Ca^{+2}-ATPaz pompası ve iv) mitokondrial Ca^{+2} uniporter ile sitozolden uzaklaştırılır. Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonun azalmasıyla Ca^{+2} troponin C'den ayrılır ve hücre dinlenim durumuna geri döner (Bers, 2002; Chakraborti ve ark., 2007).



Şekil 2.2. Kardiyomiyositlerde uyarılma-kasılma çiftleniminin şematik gösterimi. Hücre depolarizasyonu sonrası LTCC ve SR aracılı $[Ca^{+2}]_i$ artışı ile kasılma (kırmızı oklar) ve ardından çeşitli iyon kanalları ve pompalar aracılığıyla $[Ca^{+2}]_i$ azalması sonucu gevşeme (yeşil oklar) gerçekleşir. Alttaki grafik AP (siyah), Ca^{+2} transienti (mavi) ve kasılmanın (kırmızı) zamana bağlı değişimini göstermektedir. Şekil (Bers, 2002) referanstan revize edilerek hazırlanmıştır.

2.3. Antipsikotik İlaçlar

2.3.1. Antipsikotik İlaçların Tanımı ve Önemi

Nöroleptikler olarak da bilinen antipsikotikler, başta şizofreni olmak üzere çeşitli psikotik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Kişilerin düşünme, anımsama, hissetme, yorumlama, iletişim kurma gibi yaşamın temel gereksinimlerini yerine getiremediği durumların bu ilaçlar ile iyileştirilmesi sinir bilimde gelinen en önemli noktalardan biridir (Horacek ve ark., 2006). Dünya çapında 21 milyon insanın şizofreni ile yaşadığı (Charlson ve ark., 2018) ve şizofreni hastalarının ortalama 15 yıl daha kısa bir yaşam beklentisine sahip olduğu bilinmektedir (Hjorthoj ve ark., 2017). Antipsikotik ilaçlar, başta şizofreni olmak üzere psikotik hastalıkların akut belirtilerini tedavi etmekte ve tekrarlama riskini azaltmaktadır (Leucht ve ark., 2017). Fakat, tedavi edici etkilerinin yanında yaygın şekilde yan etkileri olduğu da bilinmektedir (Lieberman ve ark., 2005).

2.3.2. Antipsikotik İlaçların Sınıflandırılması

Klorpromazinin keşfiyle ortaya çıkan antipsikotik ilaçlar psikotik hastalıkların tedavisinde devrim yaratmıştır. Özellikle şizofreninin pozitif semptomlarının tedavisinde önemli bir adım olarak görülmektedir. Fakat bu etkinliğin parkinson, diskinezi, akatizi gibi EPS'yi arttırdığı çok geçmeden anlaşılmıştır (Nemeroff ve ark., 2002). Geleneksel antipsikotiklerin negatif semptomların tedavisinde etkili olmadığının anlaşılması, mevcut durumdaki eksikliklerin giderilmesi için yeni arayışların önünü açmıştır.

Antipsikotik ilaçlar tipik ve atipik olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir. Klorpromazinin 1950'li yıllarda keşfi ile başlayan tipik antipsikotikler eski nesil veya birinci kuşak olarak da isimlendirilir. 1960'lı yıllarda klozapinin keşfi ile başlayan atipik antipsikotik ilaçlar aynı zamanda yeni nesil veya ikinci jenerasyon ilaçlar olarak da adlandırılırlar.

2.3.3. Tipik Antipsikotikler

Geleneksel antipsikotikler olarak da adlandırılan tipik antipsikotikler, antihistaminik özelliği bilinen klorpromazinin şizofreni hastalarında test edilmesi sonucu antipsikotik etkisinin ortaya çıkmasıyla keşfedilmiştir. Tipik antipsikotiklerin dopamin D2

reseptörlerine afinitesi çok yüksektir ve etkilerini bu reseptörleri bloke ederek gösterirler. Fakat bu ilaçlar seçici değillerdir ve beyindeki tüm dopamin yolaklarına etki ederler. Mezolimbik, mezokortikal, nigrostriatal, tuberoinfundibular, nigrospinal ve hipotalamospinal olmak üzere beyinde farklı dopamin yolakları bulunmaktadır (Serretti ve ark., 2004; Björklund ve ark., 2007).

Şizofrenide aktivitesi artan mezolimbik yolak delüzyon ve halüsinasyon gibi pozitif semptomlar ortaya çıkarmaktadır (Miyamoto ve ark., 2012). Tipik antipsikotik kullanımı bu yolakta meydana gelen aşırı aktivasyonu azaltmakta ve pozitif semptomları hafifletmektedir. Fakat, aynı zamanda beynin ödüllendirme sistemi olarak görev yapan, nükleus akumbenste de dopamin salınımını engellemektedir. Bu durum zevk almada, motivasyonda ve sosyal ilişkilerde sorun yaşamasına neden olmaktadır.

Bir diğer dopamin yolağı olan ventral tegmental alandan preforantal kortekse giden mezokortikal yolağın aktivitesi şizofrenide normalden daha azdır. Kullanılan geleneksel antipsikotikler D2 blokajı sonrası bu yolağın aktivitesinin daha da azalmasına ve sosyal geri çekilme, motivasyon kaybı gibi şizofrenide var olan semptomların daha da kötüye gitmesine neden olmaktadır (Serretti ve ark., 2004; Miyamoto ve ark., 2012).

Nigrostriatal dopamin yolağı normal koşullarda şizofreniden çok fazla etkilenmemektedir. Fakat dopamin reseptörlerinin kullanılan antipsikotiklerle blokajı EPS gibi motor fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (Stahl, 2021).

Son olarak hipotalamustan hipofiz bezine uzanan tuberoinfundibular dopamin yolağında şizofrenide düzgün çalışmaktadır, fakat dopaminin D2 reseptörlerine bağlanmasının engellenmesi prolaktin seviyesinde artışa neden olmaktadır.

Sonuç olarak tipik antipsikotikler seçici değillerdir. Belirli bir bölgeyi hedef almak yerine beyindeki tüm dopamin yolaklarını etkilemektedir. İlk bakışta sadece mezolimbik yolağın bloke edilmesi yararlı olarak görülse de ödül merkezini etkileyerek istenmeyen sonuçlar doğurmaktadır. Diğer yolakların blokajı EPS artışına neden olmaktadır (Serretti ve ark., 2004). Şizofreni hastalarında EPS'nin artışının intihara yol açtığı öne sürülmüştür (Miles, 1977; Caldwell ve Gottesman, 1990).

Fizyolojik sistemde tipik antipsikotiklerin yan etkilerinin fazla olması daha etkili çözümler elde etmek için yeni ilaçlar geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Belirlenen hedefler doğrultusunda yeni geliştirilen atipik antipsikotiklerin ortaya çıkması geleneksel olan ilaçların rafa kaldırılmasına neden olmuştur.

2.3.4. Atipik Antipsikotikler

Atipik antipsikotikler, 1960'lı yıllarda klozapinin keşfiyle ortaya çıkmıştır. Şizofreninin hem pozitif hem de negatif semptomları üzerine tipik antipsikotiklere kıyasla daha etkili olmasına rağmen, hastalarda yaklaşık %2 oranında ciddi agranülositoz gelişmesi nedeniyle klozapin 1975 yılında piyasadan kaldırılmıştır (Riedel ve ark., 2007). Daha sonra 1990 yılında tedaviye dirençli şizofrenik hastalarda kullanım amacıyla tekrar piyasada yerini almıştır (Nemeroff ve ark., 2002).

Atipik antipsikotiklerin sınıflandırılması belirli reseptörlere afinitelerini yansıtan farmakodinamik özellikleri ile ilişkilidir. Tipik antipsikotiklerden farklı olarak atipik antipsikotikler D2 reseptörlerine ilaveten serotonin 2A (5HT2A) reseptörlerine yüksek afiniteye sahiptirler ve serotonin-dopamin antagonistleri (SDA) olarak adlandırılırlar. 5HT2A, D2 ve diğer reseptörlere (kolinerjik, histaminerjik, 5HT1A, 5HT2C ve diğerleri) afinitesi olan ilaçlar "*multi-acting receptor-targeted antipsychotics"* (MARTA) olarak adlandırılırlar (Bymaster ve ark., 1996). Başka bir antipsikotik ilaç grubu da etkisini dopamin ve serotonin parsiyel agonisti olarak göstermektedir.

2.3.5. Atipik Antipsikotiklerin Etki Mekanizması

Tedavi edici etkiye sahip bir atipik antipsikotiğin sadece pozitif semptomları değil aynı zamanda negatif semptomları, bilişsel semptomları, EPS ve hiperprolaktinemiyi de anlamlı olarak azaltması gerekir. Atipik antipsikotikler tipik antipsikotiklerden farklı olarak dopamin reseptörleri de dahil olmak üzere birçok reseptör üzerine etki etmektedir. Tipik antipsikotiklerde D2 blokajı direk antipsikotik etki ile ilişkili iken atipik antipsikotiklerde durum biraz daha karmaşıktır. Yeni nesil antipsikotiklerde bir tedavi aralığı söz konusudur. Yapılan pozitron emisyon tomografisi (PET) çalışmalarında, dopamin reseptörlerinin %60-75 aralığında bloke edilmesi ile en iyi sonuçlara ulaşıldığı ve antipsikotik etkiyi verdiği gösterilmiştir (Remington ve ark., 1999; Kapur ve

Remington, 2001). Bu oranın üzerine çıkıldığı durumlarda EPS belirtileri artmakta bu oranın altına inildiği durumlarda ise kişinin kendini iyi hissetme hali olumsuz etkilenmekte ve hastalık durumu devam etmektedir (Sedvall ve ark., 1995; De Haan L., 2000; De Haan Lieuwe ve ark., 2005). Atipik antipsikotikler seçicidirler. Bir yandan mezolimbik yolaktaki dopamin reseptörlerini bloke ederek pozitif semptomları azaltırken, diğer yandan mezokortikal yolakta şizofrenide azalan dopamin salınımını, 5HT2A reseptörlerini bloke ederek artırırlar. Tipik antipsikotiklerden farklı olarak 5HT2A reseptör blokajı ile EPS'yi azaltarak yan etkilerin daha da azalmasına neden olurlar. Son olarak tuberoinfundibular yolaktaki 5HT2A reseptörlerini bloke ederek prolaktin salgısının yükselmesini engeller ve böylece galaktore belirtilerini azaltırlar (Stahl, 2021).

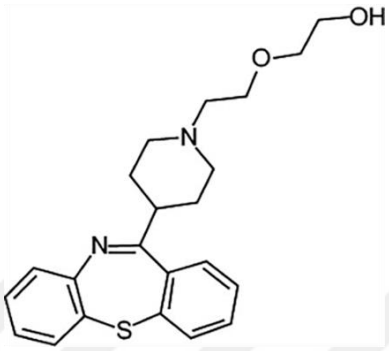
Her bir antipsikotik ilacın farklı farmakolojik etkisi vardır. Ortak olarak 5HT2A ve D2 blokajına sahiptirler. Diğer reseptörlere bağlanma afiniteleri ilaç kaynaklı yan etkilere neden olur. Örneğin H1, α1 ve M1 reseptörlerine yüksek afinitesi olan bir antipsikotik sedasyon ve ortostatik hipotansiyon görülme ihtimalini yükseltir. Bu nedenle her bir ilacın farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerinin bilinmesi ve yan etkilerin daha iyi anlaşılması klinik olarak büyük önem taşımaktadır (Zhang, 2016).

Atipik antipsikotik ilaçları; ketiapin, risperidon, olanzapin, klozapin, amisulpirid, ariprazol, ziprasidon, sertindol, paliperidon, iloperidon, asenapin, zotepin olarak sıralayabiliriz.

2.4. Ketiapin

Yeni nesil atipik antipsikotik, dibenzodiazepin türevi bir ajan olan Ketiapin, Astra Zeneca'daki bilim adamları tarafından 1985 yılında geliştirildi (Şekil 2.3). 1997 yılında FDA tarafından hem yetişkin hem de gençlerde şizofreni tedavisinde kullanılmaya başlandı. Yalnızca şizofreni tedavisinde değil, 2003 yılından sonra bipolar bireylerde manik atakların tedavisinde, 2006 yılından sonra bipolar depresyon tedavisinde FDA onaylı olarak kullanılmaktadır (Sanford, 2011; Hawkins ve ark., 2013). 2009 yılında FDA onayı olmadan birçok ülkede antidepresanlarla kombine bir şekilde majör depresif bozuklukların tedavisinde kullanılmaya başlandı (Plosker, 2012). Ayrıca anksiyete bozukluğu, deliryum, demans ile ilişkili psikotik bozukluklar, obsesif kompulsif

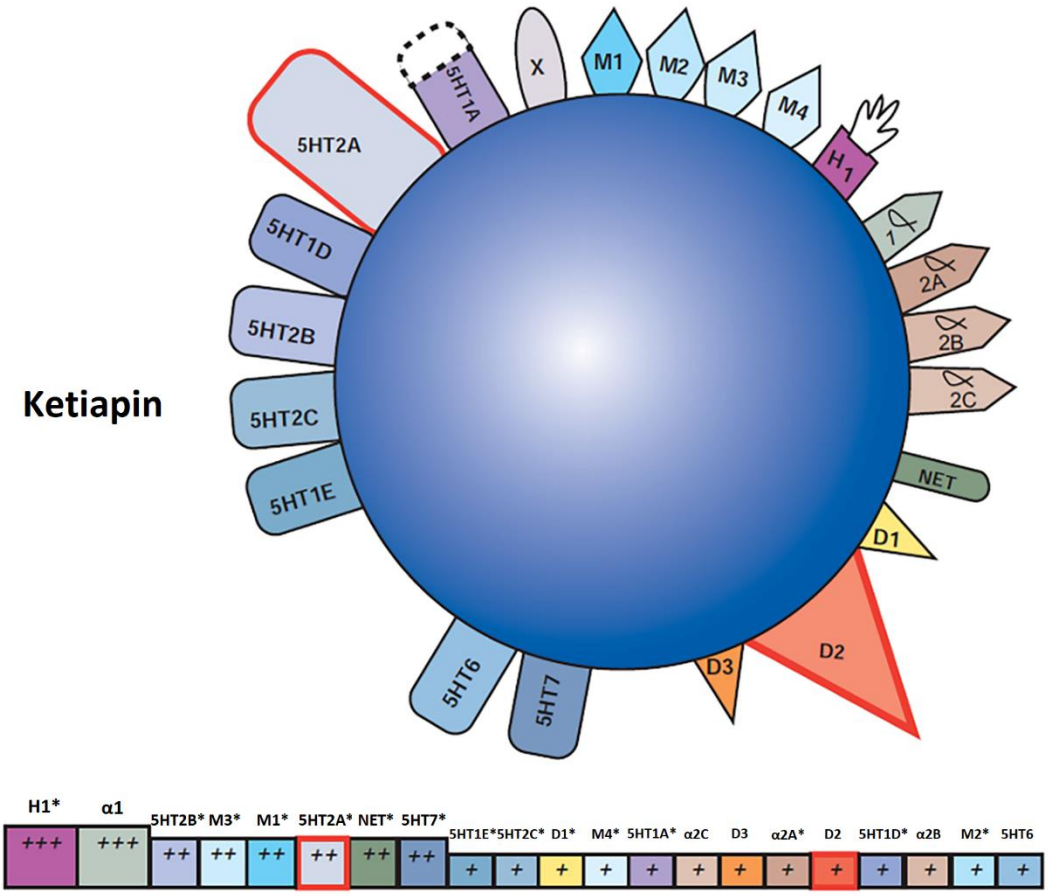
bozukluklar gibi mental hastalıklarda endikasyon dışı olarak reçetelendirilmektedir (Mauri ve ark., 2007). FDA onaylı olarak kullanılmasının yanı sıra şizofreni ve depresyon haricinde birçok psikiyatrik rahatsızlığın tedavisinde kullanılmasından dolayı tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.3. Ket'in kimyasal yapısı.

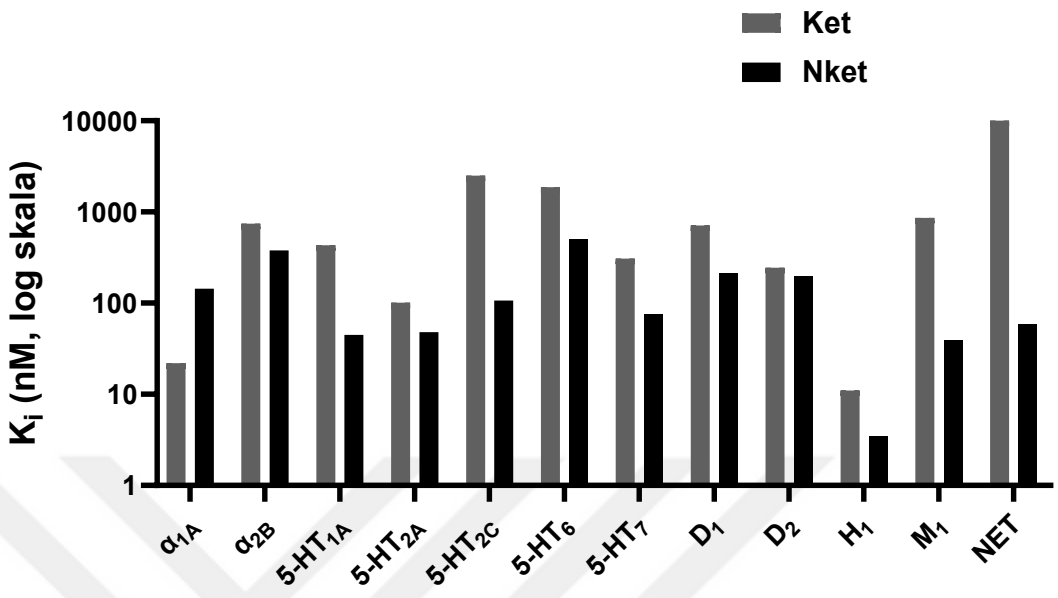
2.4.1. Etki Mekanizması

Ket, geniş bağlanma profiline sahip yeni nesil bir ilaçtır (Nemeroff ve ark., 2002)(Şekil 2.4). D1 ve D2 reseptörlerine kıyasla serotonerjik reseptörlere özelliklede 5HT2A reseptörüne karşı daha yüksek afiniteye sahiptir (Saller ve Salama, 1993; Casey, 1996). Ayrıca histaminerjik ve α-adrenerjik reseptörlere yüksek bir afinite gösterirken, muskarinik M_1 reseptörlerine nispeten daha düşük afinite gösterir (Richelson ve Souder, 2000; Gefvert ve ark., 2001). Ket farklı dozlar için birçok farklı farmakolojik özellik barındırır. Birden fazla reseptör üzerinde etkisinin olması yan etki profiline katkı sağlamaktadır.



Şekil 2.4. Ket ve Nket'in(*) bağlanma profili. Güncel verilerden elde edilen bağlanma profilini göstermektedir. Ket, D2 reseptörlerinin yanı sıra H1 reseptörlerine yüksek afiniteye sahiptir ve bipolar ve unipolar depresyonun yanı sıra anksiyete bozukluklarında uyku bozukluklarını iyileştirme yeteneğine de katkıda bulunabilir. Nket'in kısmi agonist özelliği, norepinefrin taşıyıcı (NET) inhibisyonu ve 5HT2C antagonist özellikleri bilişsel güçlenmenin yanı sıra duygu durum iyileşmesine katkı sağlar. Ayrıca H1 ve 5HT2C antagonist özellikleri kilo alımına katkı sağlar. Reseptör bağlanma profilleri uygulanan teknik ve farklı laboratuvar şartlarında farklılık gösterebilir. Şekil (Stahl, 2021) referanstan revize edilerek hazırlanmıştır.

İnhibisyon sabiti olarak adlandırılan K_i değeri, ligand ile reseptör arasındaki etkileşimin afinitesini ölçmek için kullanılan bir değerdir. K_i değeri bir inhibitörün ne kadar güçlü olduğunun göstergesidir ve maksimum inhibisyonun yarısını elde etmek için gerekli olan konsantrasyondur. K_i değeri ne kadar düşük olursa, ligandın reseptöre afinitesi o kadar artar. K_i genellikle afiniteleri karşılaştırmak için kullanılır. Şekil 2.5 ve Tablo 2.1 Ket'in reseptör bağlanma profilini göstermektedir (Yung-Chi ve Prusoff, 1973; Richelson ve Souder, 2000).



Şekil 2.5. Ket (gri) ve Nket'in (siyah) bağlanma afiniteleri (Ki, logaritmik skalada nanomolar olarak verilmiştir). Şekil (Jensen ve ark., 2008) referanstan revize edilerek hazırlanmıştır.

Tablo 2.1. Ket ve Nket'in bağlanma afiniteleri (Ki değeri nanomolar). [1](Kroeze ve ark., 2003) [2]Ki Database (http://pdsp.med.unc.edu/) referansından revize edilerek hazırlanmıştır.

				Ki değeri (nM)	
Reseptör	**Ket**	**Nket**		**Ket**	**Nket**
α_{1A}	22 [1]	144	**D_3**	483 [2]	567
α_{1B}	39 [2]	95	**D_4**	1202 [2]	1297
α_{2A}	3630 [1]	237	**D_5**	1738 [2]	1419
α_{2B}	747 [1]	378	**H_1**	11 [1]	3.5
5HT1A	432 [1]	45	**H_2**	>10 μM [2]	298
5HT2A	101 [1]	48	**M_1**	858 [2]	39
5HT2C	2502 [1]	107	**M_2**	1339 [2]	453
5HT6	1865 [1]	503	**M_3**	>10 μM [1]	23
5HT7	307 [1]	76	**M_4**	542 [2]	110
D_1	712 [2]	214	**M_5**	1942 [2]	23
D_2	245 [1]	196	**NET**	>10 μM [2]	58

Ket'in D2 reseptör afinitesi diğer atipik antipsikotiklere kıyasla daha düşüktür (Kapur ve ark., 2000b). PET yöntemiyle farklı dozlarda Ket uygulamasının D2 ve 5HT2A reseptör bağlanması arasındaki ilişki incelenmiş ve Ket'in D2 reseptör doluluğunun daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu etkinin EPS'yi azaltmada önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Gefvert ve ark., 2001; Peuskens, 2011). D2 reseptörüne bağlanma afinitesinin diğer reseptörlere kıyasla daha düşük olmasının yanı sıra Ket karmaşık bağlanma özelliklerine sahiptir ve bu özelliği basit bir antipsikotikten daha fazlası olduğunu göstermektedir.

Ket'in, pik plazma konsantrasyonu ve klinik etkileri bakımından farklılık gösteren anında salım (IR) ve sürekli salım (XR) olmak üzere iki farklı formu vardır (Riedel ve ark., 2008; Bui ve ark., 2013). Her iki formülasyonun yarılanma süreleri birbirine eşittir (Bui ve ark., 2013). Pik plazma konsantrasyonlarına ulaşma süreleri XR formülasyonu için 5 saat, IR formülasyonu için 2 saattir. XR formülasyonu tam gün süren etkisiyle antipsikotik için idealdir. Özellikle XR formu majör depresif bozuklukların tedavisinde, bipolar ve unipolar bozukluklarda depresif atakların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Stahl, 2021).

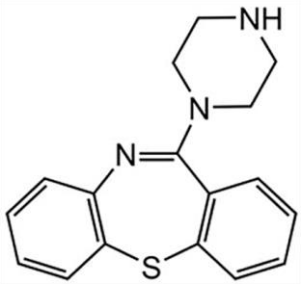
Farklı formülasyonda kullanılmasının yanı sıra farklı dozlarda kullanılan Ket farklı farmakolojik etki gösterir. Düşük dozlarda (yaklaşık 50 mg/gün), afinitesinin en yüksek olduğu H_1 reseptörlerini bloke eder ve antihistaminik özellik gösterir (Şekil 2.4). 50 mg/gün dozda D2 reseptör doluluğu eşik değerin (%60 D2 reseptör doluluğu) oldukça altındadır ve antipsikotik etki göstermez. 300 mg/gün yüksek doz uygulamasında antidepresan etkisi gözlemlenir. Özellikle Ket'in aktif metaboliti olan Nket, NET blokajı ve 5HT2C antagonist özellikleri ile dopamin salınımını arttırarak eşik dopamin doluluğuna neden olur. Ayrıca 5HT1A agonisti olması ve 5HT7, α2, 5HT1B/D reseptörleri üzerine antagonist etkileri antidepresan özelliklerine katkı sağlar. Ket ve aktif metabolitinin birçok farklı reseptör üzerine olan etkileri antidepresan özelliğini göstermektedir (Lopez-Munoz ve ark., 2013).

Tavsiye edilen en yüksek doz olan 800 mg/gün Ket H_1-histaminerjik ve 5HT2A reseptörlerini doygunluğa ulaştıran ve D2 reseptörlerini eşik dediğimiz %60 değerinin üzerinde tutan dozdur. Potansiyel olarak yüksek doz olan 800 mg/gün, terapötik antipsikotik dozdur. Kullanılan dozu ve formülasyonu ne olursa olsun EPS ve prolaktin

yükselmesine engel olur. Bu nedenle Ket, parkinson ve psikoz tedavisinde tercih edilen bir ilaçtır (Kapur ve Seeman, 2000a; Nyberg ve ark., 2010). Ayrıca Ket tüm dozlarda antihistaminik özelliklerinden dolayı kilo alımına neden olabilir (Atmaca ve ark., 2003; Williams S. G. ve ark., 2010).

2.5. Norketiapin

Ket, karaciğer tarafından çeşitli metabolitlerle metabolize edilir. Norketiapin (N-desalkylquetiapine) Ket'in en önemli aktif metabolitidir ve kimyasal yapıları oldukça benzerdir (Jensen ve ark., 2008; Winter ve ark., 2008) (Şekil 2.6). Nket sitokrom P450 sistemindeki CYP 3A4 izoenzimlerinin etkisiyle üretilir (Lopez-Munoz ve ark., 2013). CYP 3A4'ü etkileyen hiçbir genetik polimorfizm olmadığından Ket metabolizmasında ırk veya genetiğe dayalı varyasyonlar bulunmamaktadır. Bazı antipsikotik ilaçların aktif metabolitleri, orijinal bileşiğe benzer veya ondan farklı olabilen farmakodinamik ve farmakokinetik özellikler sergiler. Aktif bir metabolit, bir ilacın terapötik etkisinden tamamen veya yalnızca kısmen sorumlu olabilir. Bazen bir metabolit, orijinal molekülün farmakolojik aktivitesini tersine çevirir veya devre dışı bırakabilir (Fura, 2006; Lopez-Munoz ve ark., 2013). Pek çok psikoaktif ilacın etkilerinin yalnızca orijinal molekülün değil, aktif metabolitlerinin de sonucu olduğuna yaygın olarak inanılmaktadır. Nket, Ket'den farklı farmakolojik aktivite sergiler ve antidepresan etkinliğinde önemli rol oynar. Ket'in net farmakolojik etkisi sadece kendisine değil aynı zamanda Nket'in birleşik farmakolojik etkilerine bağlıdır. Nket, Ket'e kıyasla çok daha farklı farmakolojik etkiye sahiptir. Özellikle NET inhibisyonu, 5HT2C, 5HT7, α2 ve 5HT1A kısmi antagonist etkisi vardır (Nyberg ve ark., 2007; Prieto ve ark., 2010). Bu etkiler Ket'in güçlü antidepresan ve antipsikotik etkilerine katkıda bulunur (Jensen ve ark., 2008).



Şekil 2.6. Nket'in kimyasal yapısı.

2.6. Antipsikotiklerin Yan Etkileri

Atipik antipsikotiklerin keşfi EPS ve diskinezi riskini ciddi oranda azaltmasına rağmen farklı yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Özellikle H1 ve α1 reseptörüne yüksek afinitesinin olması nedeniyle sürekli uyku hali, ortostatik hipotansiyon ve baş dönmesi en sık rastlanan yan etkileri arasında gösterilmektedir (Bergman ve ark., 2017). Yapılan araştırmalar antipsikotiklerin özellikle kilo alımına, lipid metabolizması bozukluklarına neden olduğunu ve ayrıca sinüs taşikardi, miyokardit, kardiyomiyopati ve QTc aralığının uzaması gibi kardiyovasküler riskte artışa neden olduğunu ortaya koymaktadır (Solmi ve ark., 2017).

2.7. Ketiapin Kardiyovasküler Yan Etkileri

2.7.1. Ketiapin ve Kan Basıncı

Antipsikotik ilaçlarda sık görülen ortostatik hipotansiyon bir kişinin kan basıncının ayağa kalkarken veya otururken en az 25 mmHg ani düşmesi durumudur (Stanniland ve Taylor, 2000). Özellikle α1 reseptörlerinin blokajı, vazokonstriktör etkinin bloke edilmesiyle ortostatik hipotansiyona neden olmaktadır. Ket'in α1-adrenoseptörleri üzerine afinitesi oldukça yüksektir ve bu reseptörlerin inhibisyonu, diğer birçok antipsikotik ilaçta olduğu gibi hipotansiyon gelişimine neden olmaktadır. Ket, klozopin ve risperidon en fazla ortostatik hipotansiyona neden olan antipsikotiklerdir ve çoklu antipsikotik kullanımı, görülme sıklığını arttırmaktadır (Michelsen ve Meyer, 2007; Mackin, 2008).

2.7.2. Ketiapin ve Ani Ölüm

Antipsikotikler ani ölümlerin en sık rastlandığı ilaç grupları arasında yer almaktadır (Abdelmawla ve ark., 2006). Antipsikotik ilaç kullananların kullanmayanlara göre 2,39 kat daha fazla ani ölüm riski taşıdığı ve bu değerin kullanılan doza bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (Ray ve ark., 2001; Ray ve ark., 2009). Ayrıca gençlerde bu riskin %2 daha fazla olduğu gösterilmiştir (Jablensky, 2003). Meydana gelen ani ölümlerin EKG'de QT aralığının uzaması, TdP ve ventriküler taşikardinin neden olduğu aritmilerden kaynaklandığı varsayılmaktadır (Abdelmawla ve ark., 2006). Buna karşılık Ket kullanan 2953 hastada yapılan bir çalışmada yaklaşık %0,4 ölüm gerçekleştiği ve ani ölüm

gözlenmediği rapor edilmiştir. Bu nedenle meydana gelen ölümlerin de Ket ile ilişkili olmadığı ileri sürülmüştür (Dev ve Raniwalla, 2000).

2.7.3. Ketiapin QT İlişkisi

Tipik antipsikotiklerde olduğu gibi ikinci nesil antipsikotiklerin en önemli yan etkilerinden birisi QT aralığında meydana gelen uzamadır. Literatürde atipik antipsikotikler ile QT aralığındaki uzama arasındaki ilişkiyi ele alan çok fazla çalışma bulunmaktadır. Aynı zamanda, Ket ile QTc aralığındaki uzama ile ilişkili birbiriyle çelişen birçok rapor da yayınlanmıştır. 2014 yılında yapılan bir olgu sunumunda farklı ilaçlarla beraber yüksek doz Ket kullanımının, kardiyak öykü, cinsiyet ve yaş dikkate alındığında QTc'de ciddi uzamaya neden olduğu ve 12 hastadan 4'ünde TdP gözlendiği rapor edilmiştir (Hasnain ve ark., 2014). 2016 yılında Melada ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada Ket ile QTc arasındaki ilişkinin doz bağımlı olarak arttığı ve tedavi edici aralıklarda bile QTc'de anlamlı bir uzamaya neden olduğu gösterilmiştir (Melada ve ark., 2016). Scott ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise yaygın kullanılan antipsikotiklerin QTc aralıkları üzerine etkileri incelenmiş ve Ket diğer antipsikotiklere kıyasla düşük risk grubunda gösterilmiştir (Beach ve ark., 2013).

Ket terapötik dozda kullanıldığında QTc uzaması riski düşük olarak kabul edilmektedir. Ancak tedaviye dirençli hastalarda Ket'in yüksek dozlarda kullanımı, QTc uzaması ile ilişkili diğer ilaçların birlikte uygulanması ve aritmilerle ilişkili elektrolit bozukluklarının olması halinde riski arttırmaktadır. Diğer birçok ilaçta olduğu gibi, doğuştan uzamış QTc, cinsiyet, yaş ve ailede uzamış QTc öyküsü de Ket ile ilişkili QTc uzaması için risk faktörleri olarak görülmektedir. Bunlara ek olarak aritmiler, kalp yetmezliği ve kapak problemleri gibi kardiyak problemlerin varlığı riske katkıda bulunmaktadır. Özet olarak çoklu risk faktörlerinin varlığı, QTc uzaması ve TdP riskini arttırmaktadır (Hasnain ve ark., 2014).

Ket'in, QTc aralığına etkisi ile ilişkili birçok rapor yayınlanmıştır. Çalışmalar, QTc aralıklarında –12,2 ms'den +19,7 ms'ye kadar olan değişiklikleri göstermektedir (Goodnick ve ark., 2002; Harrigan ve ark., 2004; Hough ve ark., 2011; Potkin ve ark., 2013; Hasnain ve ark., 2014). *'Schizophrenia Patient Outcomes Research Team'*

(PORT)'un psikofarmakolojik tedavi önerileriyle ilgili çalışmada antipsikotiklerin QTc aralığını uzatma riskleri tiyoridazin > ziprasidon> ketiapin = risperidon = olanzapin= haloperidol ≥ klozapin şeklinde sıralanmıştır (Buchanan ve ark., 2010). Ket'in uzama riskini netleştirmek için geniş ölçekli ve kapsamlı QTc denemelerine ihtiyaç vardır (Dietle, 2015).

2011 yılında FDA tarafından Astra Zeneca'ya Ket'in QT aralığında bir uzamaya ve TdP oluşturma potansiyeline sahip olduğu hakkında bir uyarı eklemesi talimatı verilmiştir. Bu uyarı 2013 yılında uygulamaya konulmuştur (AstraZeneca Pharmaceuticals, 2013). Astra Zeneca ayrıca Ket ile kullanıldığında QTc aralığını uzatan ilaçların listesini de tanımlamıştır: Sınıf 1-A antiaritmikler (kinidin, prokainamid) veya sınıf 3 antiaritmikler (amiodaron, sotalol), antipsikotik ilaçlar (ziprasidon, klorpormazin, tiyoridazin), antibiyotikler (gatifloksasin, moksifloksasin) ve diğer QT aralığını uzattığı bilinen ilaçlar (pentamidin, levomethadol asetat, methadon) ile kullanıldığında QTc önemli ölçüde artmaktadır. Ayrıca, kardiyak aritmi öyküsü olan, hipokalemi veya hipomagnezemi olan, QTc aralığını uzattığı bilinen diğer ilaçlarla beraber kullanıldığında, kalıtsal QT aralığı uzaması olan kişilerde TdP ve ani ölüm riskini arttırabileceğinden dolayı bu durumlarda Ket'in kullanılmaması gerektiği konusunda da uyarı bulunmaktadır.

2.8. Ketiapinin İyon Kanalları Üzerine Etkileri

Hücreyi depolarize ve repolarize edici akımlar arasındaki denge AP'nin süresini belirlemektedir. Ket veya Nket'in iyonik akımlar üzerine olan etkisinin bilinmesi, AP'de meydana gelen değişimler ve potansiyel bir aritmojenik riske sahip olup olmadığı hakkında bilgi vermektedir. Literatürde Ket ve Nket'in I_{Na} ve I_K üzerine direk etkisinin olduğu gösterilmiştir. 2018 yılında Lee ve arkadaşlarının HEK hücrelerinde eksprese edilen hERG kanalları üzerine Nket'in etkisini inceledikleri çalışmada hem Ket'in hem de Nket'in hERG kararlı durum akımlarını konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Lee H. J. ve ark., 2018). Bu akımlar AP'nin son kısmında görev alan en önemli repolarize edici K^+ akımları arasındadır (Sanguinetti ve ark., 1995). hERG akımlarının blokajının QT aralığının ve AP süresinin uzamasının en önemli nedenlerinden birisi olduğu bilinmektedir. Birçok antipsikotiğin hERG kanalları üzerindeki inhibe edici etkisi QT aralığının uzamasına ve TdP oluşma riskinin artmasına neden olmaktadır

(Pacher ve Kecskemeti, 2004; Testai ve ark., 2004). Fakat tedavi edici dozlarda hERG akımları üzerine bloke edici etki gözlenmemektedir. Genellikle tedavi edici dozlarda Ket kardiyovasküler olarak güvenli ilaç olarak görülse de yüksek dozlarda risk oluşturmaktadır (Harmon ve ark., 1998; Nudelman ve Cohen, 1998). HEK293 hücrelerinde yapılan bir çalışmada insan kardiyak Na^+ kanalları ($hNa_v1.5$) üzerine Ket ve Nket'in etkisi incelenmiş; hem Ket'in hem de Nket'in konsantrasyon bağımlı olarak $hNa_v1.5$ akımlarını bloke ettiği ve özellikle kanalın inaktif durumuna afinitelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 2020). Bu akımların blokajı hERG akımlarının tersine AP süresinin ve QT aralığının kısalmasına neden olmaktadır.

Ket ve Nket'in QT aralığında meydana gelen değişim üzerindeki etkisinin anlaşılması ve aritmojenik etkilerine katkı sağlayabilecek potansiyel riskin belirlenmesi için bugüne kadar yapılan çalışmalar yeterli görünmemektedir. Bu yüzden diğer kardiyak iyonik akımları nasıl etkilediğini, AP süresini uzatıp uzatmadığını net bir şekilde ortaya koymak için daha fazla sayıda ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 80 adet 250-300 gr ağırlığında 3 aylık Wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Tüm deney prosedürleri Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Karar no: 2019.11.010) tarafından belirlenen kurallar çerçevesinde gerçekleştirildi. Hayvanlar su ve yem kısıtlaması olmaksızın her kafeste 4 sıçan olacak şekilde ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüde tutuldu. Çalışmamızda akut elektrofizyolojik değişimlerin belirlenmesi amaçlandığından gruplandırmamız hücre seviyesinde uygulama öncesi ve sonrası olarak tasarlandı. Ket veya Nket verilmeden önce miyositlerden ölçülen parametrelerin bazal değerleri kontrol (Kon) olarak kabul edilirken, uygulamadan sonra ortaya çıkan değişiklikler verilen ilacın türüne bağlı olarak Ket veya Nket olarak ifade edilmiştir. Ket ve Nket dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü. Nihai DMSO konsantrasyonu %0,05'den daha düşük değerlere karşılık gelmektedir. DMSO konsantrasyonunun akımlar üzerine oluşturabileceği etkiyi ortadan kaldırmak için aynı oranda DMSO, dış solüsyon (tyrode) içerisine eklendi.

3.2. Kardiyomiyosit İzolasyonu

Tek bir ventrikül hücresinde çalışmamızın yapılabilmesi için sıçanlar hafif anestezi altına (40 mg/kg, sodyum pentabarbütal) alındı ve kalpleri hızlı bir şekilde çıkartılarak aorta geçirilen bir kanül vasıtasıyla Langendorff sistemine bağlandı. Daha önceki çalışmamızda kullandığımız yöntem ile benzer şekilde (Ozturk ve ark., 2021a) kalbin içerisindeki kanın tamamen temizlenmesi için içeriği (mM): 137 NaCl; 5,4 KCl; 0,5 $MgCl_2$; 1,8 $CaCl_2$; 11,8 HEPES; 10 Glikoz (pH:7.35) olarak ayarlanan ve %95 O_2- %5 CO_2 ile gazlanan Ca^{+2}'yi içeren solüsyon (Tyrode solüsyonu) kalpten geçirildi. Bu işlemin ardından kalpten Ca^{+2}'u tamamen uzaklaştırmak için içeriği (mM): 137 NaCl; 5.4 KCl; 1,2 $MgSO_4$; 1,2 KH_2PO_4; 5,8 HEPES; 20 Glikoz (pH:7.2) olarak ayarlanan Ca^{+2} içermeyen perfüzyon solüsyonu yaklaşık 5 dk geçirildi. Bu sürecin sonunda aynı solüsyon içerisine kollejenaz (0,7-1,2 mg/ml, collogenase A) ve proteaz (0,03 mg/ml) eklenerek yaklaşık 20-25 dk boyunca

kalpten geçirildi. Uygun kıvama gelen kalp Ca^{+2} içermeyen perfüzyon solüsyonu içerisine alındı, atriyumlar ve sağ ventrikül makas yardımıyla kesilip ayrıldı ve sadece sol ventrikül kullanıldı. Daha sonra sol ventrikül makas yardımıyla parçalanarak 100 µm'lik ince bir filtreden geçirildi. İçerisinde Ca^{+2} bulunmayan hücre süspansiyonuna final konsantrasyonu 1,5 mM olacak şekilde kademeli olarak Ca^{+2} eklenerek ventrikül miyositlerinin Ca^{+2} adaptasyonu sağlandı. Yaklaşık 1 saat süren bu adaptasyon sürecinden sonra elde edilen kardiyomiyositler ile elektrofizyolojik deneylere başlandı. Tüm deneysel kayıtlar sıcaklığı 36±1 °C'ye ayarlanan hücre banyosu içindeyken alındı.

3.3. Kasılma Parametrelerinin Ölçülmesi

İzole sol ventrikül miyositleri içerisinde tyrode solüsyonu olan banyo içerisine alındı. Uyarılabilen hücrelere 1 Hz frekanslarda akım kenetleme modunda 8-10 pA ve 4 ms'lik AP pulsları uygulanarak kasılma tetiklendi. Sarkomer boylarındaki kararlı bir kısalma yanıtının oluşması için beklendi ve ardından kısalma cevapları IonOptix programı ile kayıt edildi. Elde edilen sonuçlar IonWizard (IonOptix, USA) programı ile analiz edildi (Ozturk ve ark., 2023). Kasılmanın maksimuma ulaşma süresi, relaksasyonun %50'ye gelme süresi, % kasılma oranı (L/L_0) ve kasılma hız parametreleri (±dl/dt) değerlendirildi.

3.4. Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi

Çalışmamızda sol ventrikül miyositlerden AP kayıtları alındı. İçerisinde (mM): 120 K-aspartat; 10 NaCl; 20 KCl; 10 HEPES; 5 MgATP (pH 7,2) solüsyonu olan 2-2,5 MΩ'luk dirence sahip elektrotlar kullanıldı. Tyrode solüsyonu içerisindeki hücre ilk önce 'gigaseal' konumuna getirildi ve ardından pozitif ve negatif basınçlar uygulanarak hücre membranının kırılmasıyla pipet ile hücre içinin birleşmesi sağlandı. Akım kenetleme modunda AP oluşmasına öncülük edecek olan eşik değerin geçilmesi için yaklaşık 4 ms süreli 10 nA'lık puls uygulandı. Eşik üstü uyaranla AP sinyalleri tetiklendikten sonra farklı frekanslarda (0,5, 1, 2, 3 Hz) AP'ler pClamp (Axon, ABD) programı aracılığıyla kaydedildi. Daha sonra Clampfit programı kullanılarak AP'nin tepe noktası, genliği, DMP, tepeye çıkış süreleri ve repolarizasyon fazının %25, 50, 75, 90 değerlerine gelme süreleri ($APD_{25, 50, 75, 90}$) analiz edildi (Erkan ve ark., 2020).

3.5. L-Tipi Ca^{2+} Akımlarının Kaydedilmesi

I_{CaL}'de meydana gelen değişimleri değerlendirmek için tyrode solüsyonu içerisinde bulunan sol ventrikül miyositlerinde tüm hücre konfigürasyonunda voltaj kenetleme tekniği kullanıldı. İçerisinde (mM): 120 Cs-aspartat; 20 CsCl; 5 MgATP; 10 NaCl; 10 HEPES (pH 7,2) solüsyonu olan 2-2,5 MΩ'luk dirence sahip elektrotlar yardımıyla gigaseal konumuna getirilen hücre tamamen açıldıktan sonra Ca^{+2} akım protokolü çalıştırıldı. -70 mV'ye kenetlenen hücreye öncelikle sodyum akımlarını bloke etmek için -45 mV'lik bir ön puls uygulandı ve ardından I_{CaL} kaydetmek için -50 mV'den +60 mV'ye kadar 250 ms'lik pulslar 10 mV'lik basamaklar şeklinde uygulandı. Kayıt sırasında I_K bloke etmek için içeriği (mM): 137 NaCl; 5,4 CsCl; 1 $MgCl_2$; 1,8 $CaCl_2$; 11,8 HEPES; 10 Glikoz (pH 7,40) olan dış solüsyon kapiller borular yardımıyla doğrudan hücre üzerine uygulandı. I_{CaL} pClamp 10 yazılımı (Axon Instrument, Foster City CA, USA) ile kaydedildi ve Clampfit 11.0.3 yazılımı ile analiz edildi. Elde edilen her akım değerinden pulsun son bölümündeki akım değerleri (I_{ss}) çıkartıldı ve hücre büyüklüğünün akımlara etkisini ortadan kaldırmak için her akım değeri o hücrenin sığasına bölünerek normalizasyon yapıldı ve sonuçlar akım yoğunluğu (pA/pF) olarak verildi (Ozturk ve ark., 2021a).

Doz-yanıt eğrisinin oluşturulması için 0 mV'de kaydedilen I_{CaL}'de Ket ve Nket uygulaması sonrası doza bağlı olarak gerçekleşen inhibisyon belirlendi. Elde edilen doz-yanıt eğrisi,

$$Y=1/[1+(IC_{50}/Q)]^p$$

denklemine fit edildi. IC_{50}; %50 inhibisyonun görüldüğü ilaç konsantrasyonu, Q; Ket ve Nket konsantrasyonu, p; Hill katsayısı olarak tanımlandı.

Ayrıca, 0 mV'de kaydedilen akım traselerinde azalma fazı I_{CaL}'nin temel bileşenlerini tanımlamak için üstel bir fonksiyona fit edildi. Bu işlem sonunda hızlı ve yavaş zaman sabitleri belirlendi. Ayrıca 0 mV'de kaydedilen Ca^{+2} traselerinin altında kalan alan hücre içine giren toplam yük olarak değerlendirildi.

Kanalların inaktivasyon durumunu değerlendirmek için -70 mV kenetlenmiş hücrelere -45 mV ön puls uygulanarak bu potansiyelde 500 ms tutulup Na^+ kanallarının inaktif duruma gelmeleri sağlandı. Sonra –50 mV'dan 10 mV'luk artışlarla +10 mV'ye kadar 250 ms'lik depolarize edici pulslar uygulandı ve her adım sonrasında hücre 250 ms süreyle 0 mV'a kenetlendi. Elde edilen her akım değerinden pulsun sonundaki akım değerleri çıkartıldı ve sığasına bölünerek akım yoğunluğu hesaplandı. Elde edilen veriler daha sonra Boltzman denklemine fit edildi. $V_{1/2}$ yarı aktivasyon potansiyelinin değeri, V_m zar potansiyeli ve k sigmoidal eğrinin eğim parametresini temsil etmektedir. Uygulanan Boltzman denklemi aşağıda verilmiştir.

$$(I/I_{max} = [1+\exp(V_{1/2}-V_m)/k]^{-1}).$$

Kanalların reaktivasyon durumunu değerlendirmek için ilk önce -45 mV kenetlenip Na^+ kanalları inaktif duruma getirildi ardından hücre 200 ms 0 mV'ye kenetlendikten sonra -45 mV'ye dönülerek artan aralıklarla 0 mV'a kenetlendi. Protokol 900 ms uygulandı. Reaktivasyon kinetiklerini belirleyebilmek için elde edilen inaktivasyon eğrilerine eksponansiyel fit uygulandı. Fit için kullanılan denklem aşağıda verilmiştir.

$$(I/ I_{max} = [1-\exp(-t/\tau)])$$

3.6. K^+ Akımlarının Kaydedilmesi

Sol ventrikül miyositlerinin I_K'da meydana gelen değişimleri değerlendirmek için içeriği (mM): 137 NaCl; 5,4 KCl; 1,5 $CaCl_2$; 0,5 $MgCl_2$; 11,8 HEPES; 10 Glikoz (pH=7,35) olan dış solüsyon bulunan küvet içerisine hücreler yerleştirildi. Tüm hücre konfigürasyonunda voltaj kenetleme tekniği uygulandı. İçeriğinde (mM): 125 K-aspartat; 20 KCl; 5 MgATP; 10 NaCl; 10 HEPES ve 10 EGTA (pH=7,2) bulunan pipet solüsyonu ile dolu olan ve 2-2,5 MΩ dirence sahip elektrotlar yardımıyla hücreye tam yapışma sağlandı. Daha sonra pozitif ve negatif basınçlar uygulanarak hücre membranının kırılmasıyla elektrot ile hücrenin tek bir elektriksel devre olarak davranması sağlandı ve ardından K^+ protokolleri çalıştırıldı.

I_{CaL} etkisini ortadan kaldırmak için 250 µM $CdCl_2$ perfüzyon sistemine eklendi. -70 mV kenetlenen hücreye öncelikle I_{Na}'yı bloke etmek için -45 mV'lik ön puls uygulandı ve ardından I_K kaydetmek için -50 mV'dan +70 mV'a kadar 300 ms süresinde pulslar 10 mV' lik basamaklar şeklinde toplam 13 basamak olarak uygulandı. Patch-clamp amplifikatörünün (Axon 200B, Molecular Devices, USA) voltaj kenetleme modunda 3 kHz'lik filtreden geçirilen akımlar, Digidata 1200'ün 5 kHz'lik örnekleme hızında pClamp 10 yazılımı (Axon Instrument, Foster City CA, USA) ile kaydedildi. Akımların tepe değerinden pulsun son bölümündeki akım değerleri (I_{ss}) çıkartıldı, elde edilen değerlerde hücre büyüklüğünün akımlara etkisini ortadan kaldırmak için akım değerleri hücrenin sığasına bölünerek normalizasyon yapıldı ve I_{to} yoğunluğu hesaplandı (Ozturk ve ark., 2020).

60 mV'de kaydedilen akım traselerinde azalma fazı K^+ akımının temel bileşenlerini tanımlamak için üstel bir fonksiyona fit edildi. Bu işlem sonunda hızlı ve yavaş zaman sabitleri belirlendi.

Kanalların inaktivasyon kinetiklerini değerlendirmek için -70 mV'ye kenetlenmiş hücrelere -45 mV ön puls uygulanarak bu potansiyelde 300 ms tutuldu, Na^+ kanallarının inaktif duruma gelmeleri sağlandı. Sonra –60 mV'dan 10 mV'luk artışlarla +10 mV'a 400 ms'lik depolarize edici pulslar uygulandı ve her defasında 3000 ms süreyle +60 mV'a kenetlendi. Elde edilen her akım değerinden pulsun sonundaki akım değerleri çıkartıldı ve hücrenin sığasına bölünerek akım yoğunluğu hesaplandı. Elde edilen veriler daha sonra Boltzman denklemine uyduruldu. $V_{1/2}$ yarı aktivasyon potansiyelinin değeri, V_m zar potansiyeli ve k sigmoidal eğrinin eğim parametresi olmak üzere fit için uygulanan denklem aşağıda verilmiştir.

$(I/I_{max} = [1+\exp(V_{1/2}-V_m)/k]^{-1})$.

Kanalların reaktivasyon durumunu değerlendirmek için ilk önce -45 mV kenetlenip Na^+ kanalları inaktif duruma getirildi. Ardından hücre 400 ms +60 mV'ye kenetlendikten sonra -45 mV'ye dönülerek artan aralıklarla +60 mV'a kenetlendi. Protokol 300 ms uygulandı. Reaktivasyon için kullanılan eksponansiyel denklem ise aşağıdaki şekilde ifade edilebilir. $(I/I_{max} = [1-\exp(-t/\tau)])$

3.7. Kullanılan Kimyasallar

Deney gruplarımızın oluşturulmasında Ket (selleckchem; S5741) ve Nket (BioVision; 2362-50) kullanıldı. Kalp dokusundan hücre izolasyonu sırasında kollejenaz (Roche; kollejenaz tip 2) ve proteaz (Sigma; P5147) kullanıldı. Elektrofizyolojik deneyler sırasında banyo ortamının oluşturulması için hazırlanan solüsyonlarda ve farklı akımları kaydetmek için pipet içi solüsyonların hazırlanmasında; HEPES (Applichem; A1069), NaCl (Sigma; S7653), KCl (Merck; K43406136), $CaCl_2$ (Merck; K44296278), Na_2HPO_4 (Applichem; A2943), Na_2ATP (Sigma; A26209), Na_2GTP (Sigma; G8877), K-aspartat (Sigma; 11230), KH_2PO_4 (Sigma; P9791), K_2HPO_4 (Merck; A952704), CsCl (Sigma; C4036), KOH (Sigma; P1767), glukoz (Fluka; 49159), $MgSO_4$ (Sigma; M7506), $MgCl_2$ (Sigma; M8266), MgATP (Sigma; A9187), $CdCl_2$ (Fluka; 20899), EGTA (Applichem; A0878), CsOH (Fluka; 21000), L-aspartik asit (Sigma; A9256), $NaHCO_3$ (Sigma; S6297), NaOH (Merck; B0265262) kullanıldı. Sinyal yolağının araştırılmasında fosfolipaz C (PLC) inhibitörü (MCE; HY-13419), 5HT2A blokörü (Sigma; M3324) kullanıldı.

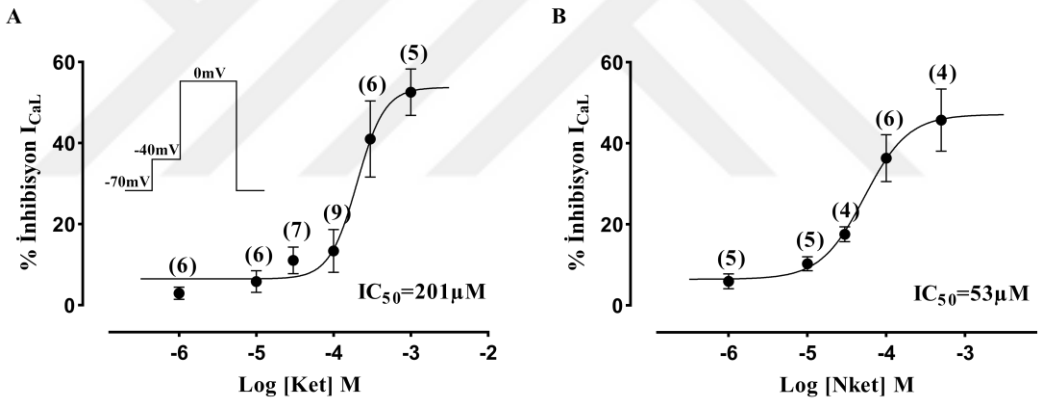
3.8. İstatistiksel Analiz

Grupların istatistiksel karşılaştırmaları için eşleştirilmiş örneklem (paired) t-testi kullanıldı. Elde edilen datalar Clampfit 10.2 yazılımı ve SPSS programı kullanılarak analiz edildi ve sonuçlar ortalama ± SEM olarak verildi. Çalışmamızdaki bütün istatistiksel değerlendirmelerin anlamlılığı $p<0,05$ olarak seçildi.

4. BULGULAR

4.1. Doz Yanıt Eğrisinin Oluşturulması

Çalışmamızda Ket ve Nket'in I_{CaL} üzerindeki doz-yanıt ilişkisini belirleyebilmek için farklı konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulanarak 0 mV'da I_{CaL} kaydedildi ve akımlarda meydana gelen azalmalar yüzde inhibisyon olarak ifade edildi. Şekil 4.1'de farklı konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulaması sonrası I_{CaL}'de meydana gelen değişimler gösterildi. Hill denklemi kullanılarak maksimum inhibisyonun görüldüğü değerin yarısı (IC_{50}) belirlendi. IC_{50} değeri Ket için 201 µM, Nket için 53 µM olarak hesaplandı. Çalışmamızda tedavi edici doza yakın düşük doz 10 µM ve IC_{50} değerlerine yakın yüksek doz olarak kabul ettiğimiz 100 µM olmak üzere 2 farklı doz kullanıldı.



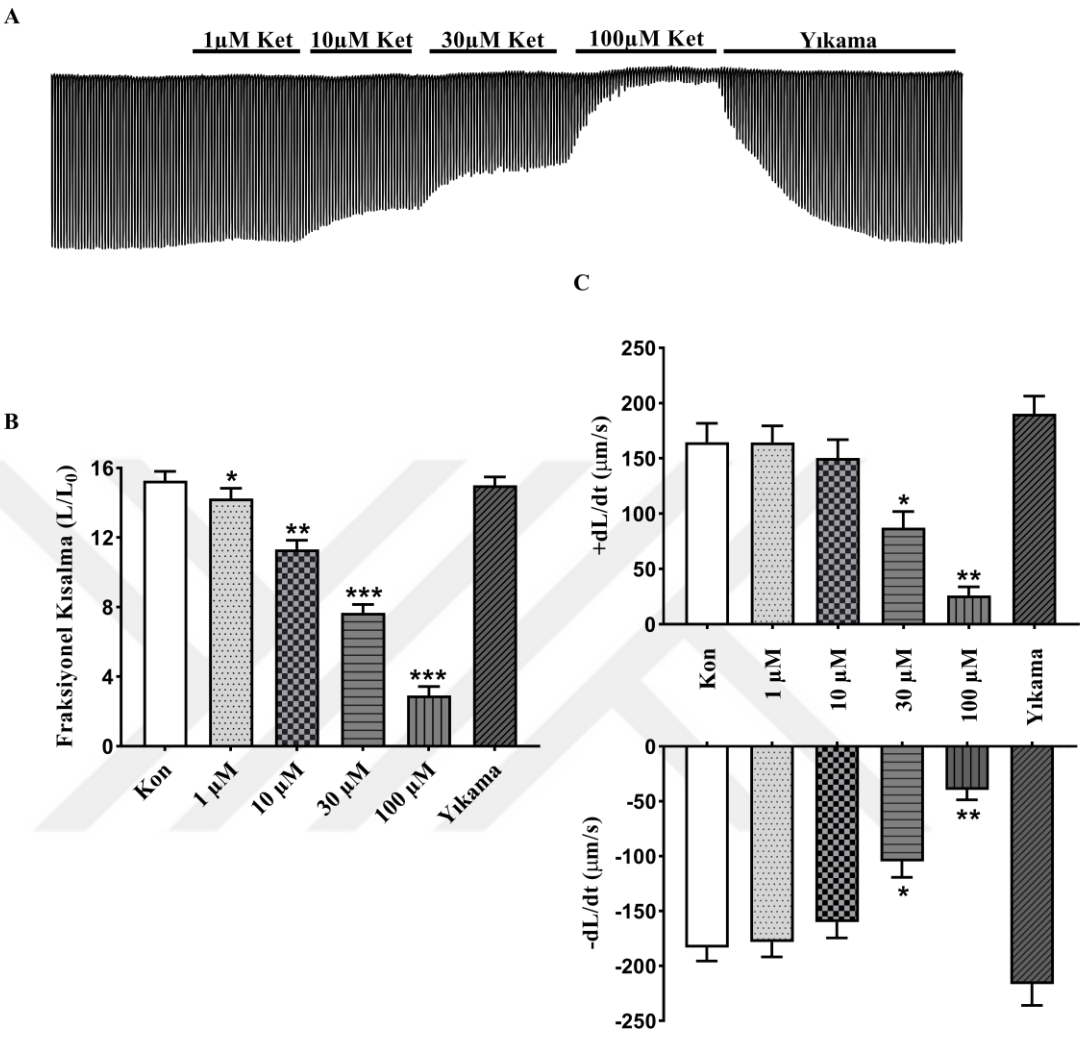
Şekil 4.1. Farklı dozlarda Ket ve Nket uygulamasının I_{CaL} üzerine etkisi. Farklı konsantrasyonlarda A) Ket ve B) Nket uygulaması sonrası 0 mV'da elde edilen I_{CaL} inhibisyonlarını göstermektedir. Doz-yanıt eğrisi $Y=1/[1+(IC_{50}/Q)]^p$ denklemine fit edildi. IC_{50}; %50 inhibisyonun görüldüğü ilaç konsantrasyonu, Q; Ket ve Nket konsantrasyonu, p; Hill katsayısı olarak tanımlandı. I_{CaL}, grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak kaydedildi. Parantez içindeki rakamlar hücre sayısını temsil etmektedir. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi.

4.2. Kasılma Parametreleri

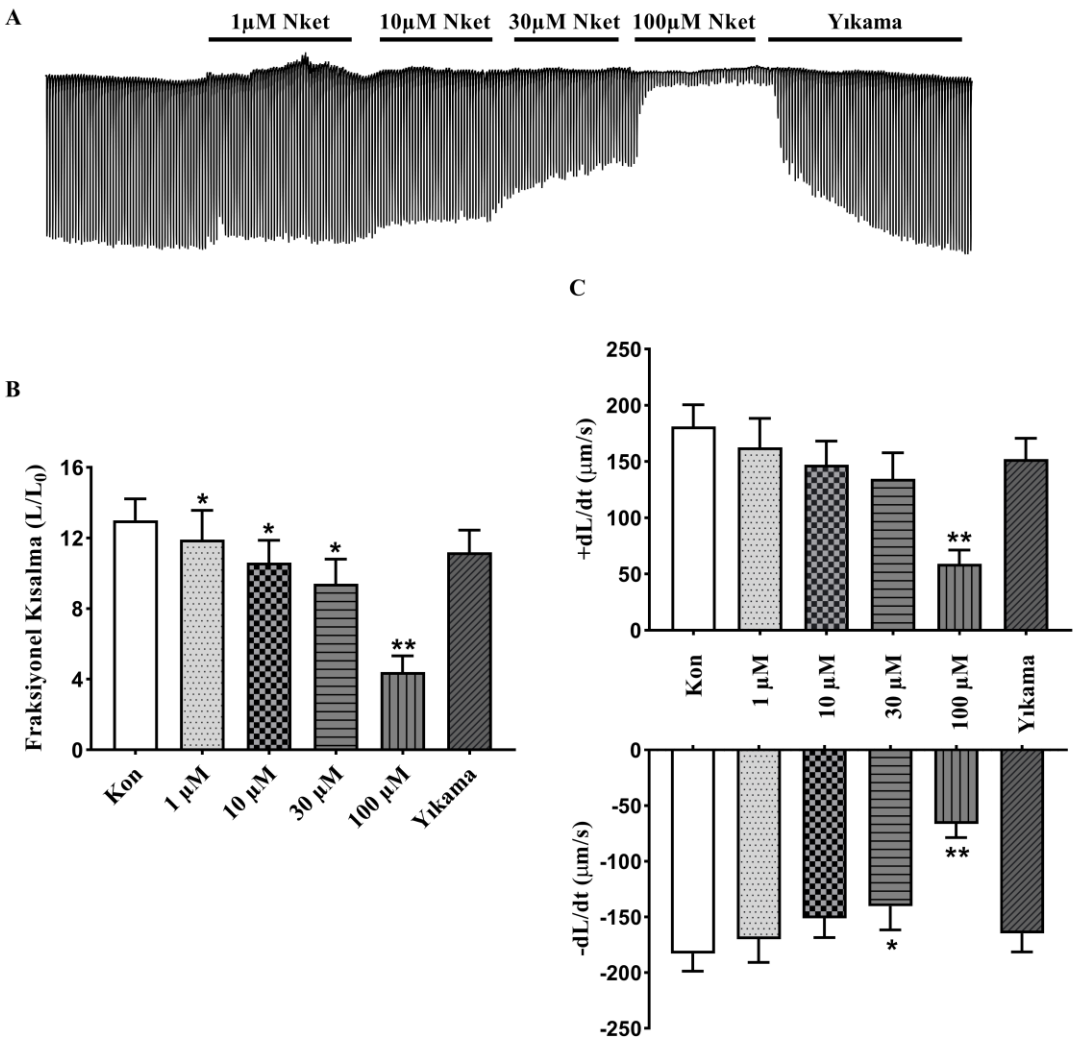
Ket ve Nket'in kullanımı sonrası kalpte oluşabilecek fonksiyonel değişikliklerin belirlenmesi için sol ventrikül hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda kasılma parametrelerine bakıldı (Şekil 4.2A, 4.3A). AP protokolü ile 1 Hz frekansta uyarılan hücrelerin boyunda meydana gelen kısalmanın başlangıçtaki boyuna oranı (fraksiyonel kısalma) ölçüldü. Kon hücrelerine kıyasla 1, 10, 30 ve 100 µM Ket uygulamasının fraksiyonel kısalmayı anlamlı olarak azalttığı tespit edildi (sırasıyla %6, 26, 50, 81) (Şekil

4.2B). 1, 10, 30 ve 100 μM Nket uygulaması da Kon grubuna kıyasla kısalmayı anlamlı olarak azalttı (sırasıyla %8, 18, 28, 66) (Şekil 4.3B). Elde edilen bulgular Ket ve Nket'in negatif inotropik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Hız parametreleri (±dL/dt) kıyaslandığında hem Ket hem de Nket uygulama sonrası Kon hücrelerine kıyasla kasılma hızlarının anlamlı düzeyde azaldığı bulundu (Şekil 4.2C, 4.3C). Sonuç olarak Ket ve Nket uygulamalarının kasılma parametreleri üzerindeki etkileri bu maddelerin kardiyak fonksiyon bozukluğuna yol açabileceğine işaret etmektedir.



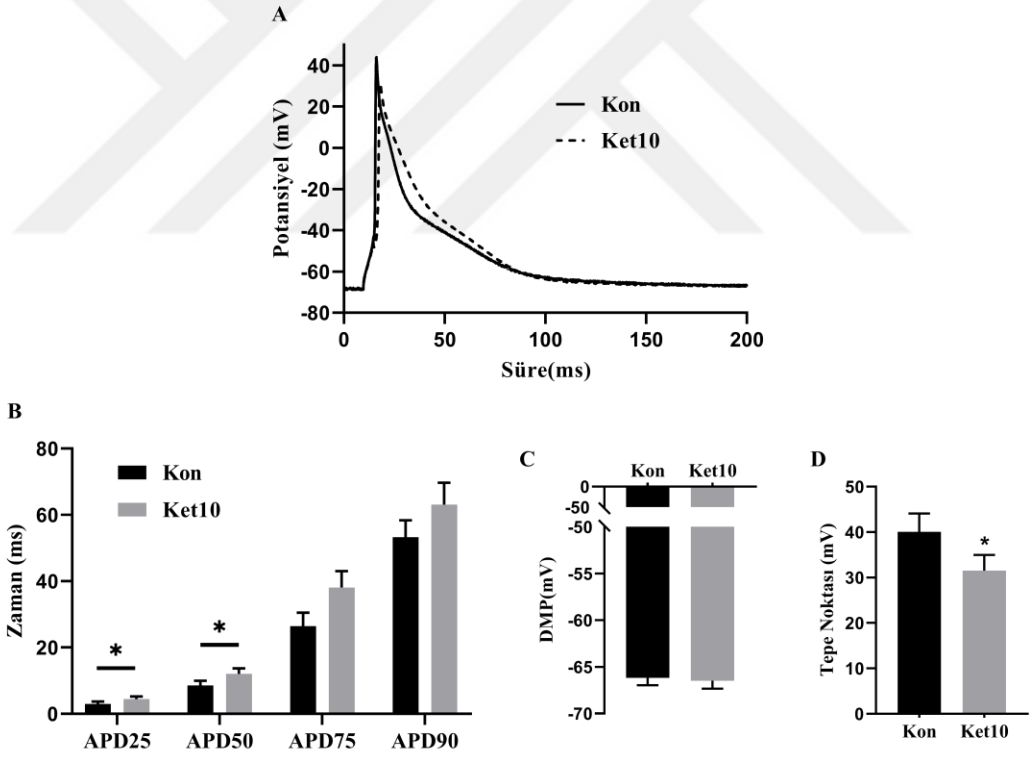
Şekil 4.2. Ket kasılma parametreleri. A) 1 Hz frekansta uyarılan hücrelerde farklı konsantrasyonda Ket varlığında kasılmadaki değişimin örnek kaydı, B) Fraksiyonel kısalma oranı, C) Hız parametreleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. n=8, *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.



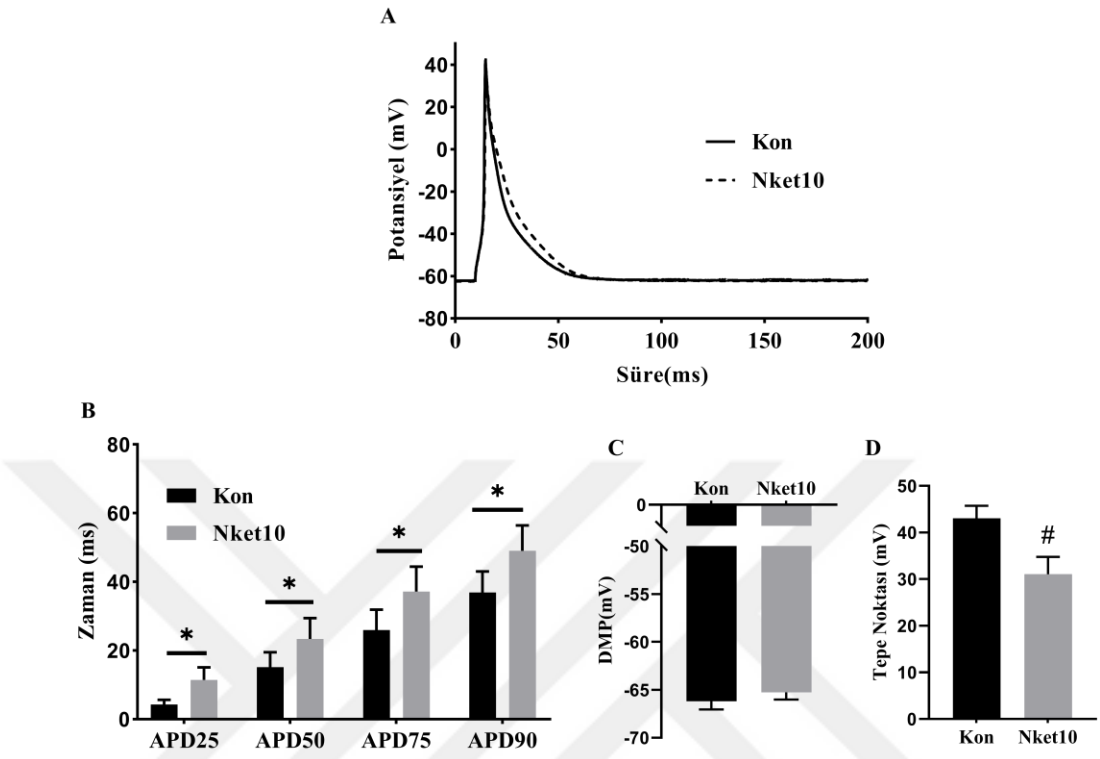
Şekil 4.3. Nket kasılma parametreleri. A) 1 Hz frekansta uyarılan hücrelerde farklı konsantrasyonda Nket varlığında kasılmadaki değişimin örnek kaydı, B) Fraksiyonel kısalma oranı, C) Hız parametreleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. n=11, *p<0,05; **p<0,01 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

4.3. Aksiyon Potansiyeli

Ket ve Nket'in sol ventrikül hücrelerinde AP parametreleri üzerine etkileri incelendi. Örnek AP kayıtları sırasıyla Şekil 4.4A ve 4.5A'da verildi. Kon grubuna kıyasla Ket10 uygulamasında yalnızca APD_{25} ve APD_{50}'de anlamlı bir uzama gözlenirken (Şekil 4.4B), Nket uygulanan hücreler incelendiğinde Kon grubuna kıyasla bütün repolarizasyon fazlarında anlamlı bir uzama görüldü (Şekil 4.5B). DMP incelendiğinde, Kon grubuna kıyasla hem Ket hem de Nket uygulamasında anlamlı bir değişim gözlenmedi (Şekil 4.4C, 4.5C). Ket ve Nket uygulaması sonrasında Kon kayıtlarına kıyasla AP genliğinde anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 4.4D, 4.5D). Tablo 4.1'de AP parametreleri detaylı olarak verildi.



Şekil 4.4. Ket uygulama sonrası 1 Hz uyarı frekansında ölçülen AP parametreleri. A) Örnek Ket AP kaydı, B) AP genliğinin %25, %50, %75 ve %90'ına ulaşması için geçen süre, C) DMP, D) AP tepe noktası. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. n=5, *p<0,05 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

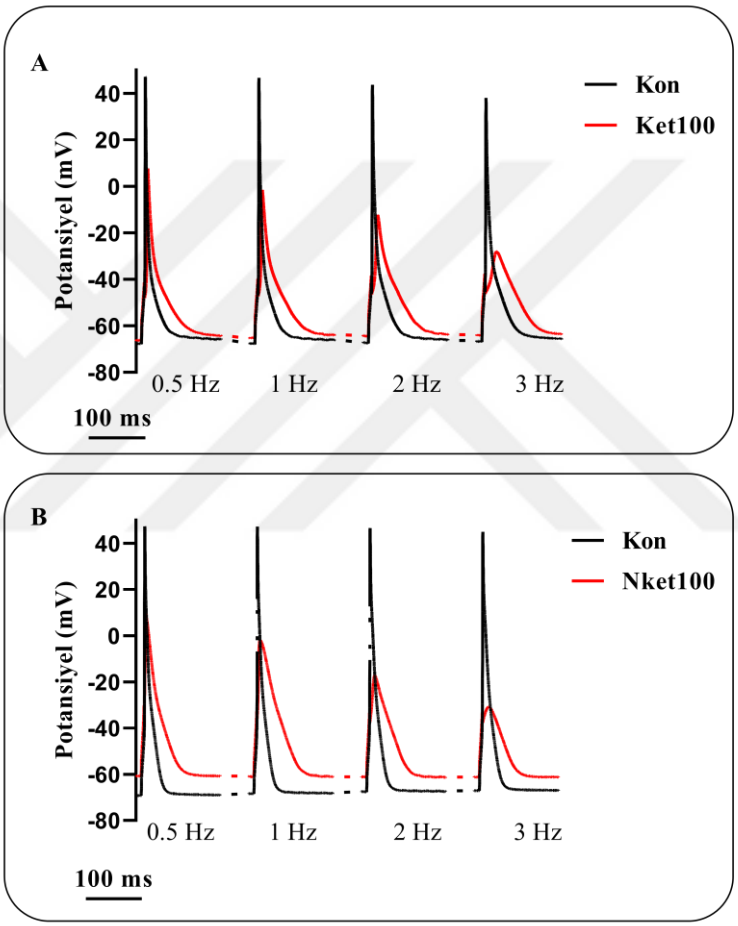


Şekil 4.5. Nket uygulama sonrası 1 Hz uyarı frekansında ölçülen AP parametreleri. A) Örnek Nket AP kaydı, B) AP genliğinin %25, %50, %75 ve %90'ına ulaşması için geçen süre, C) DMP, D) AP tepe noktası. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. n=5, *p<0,05 ve #p<0,001 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

Tablo 4.1. Sol ventrikül miyositlerinden elde edilen AP parametrelerine Ket ve Nket'in etkileri. Gruplara ait sol ventrikül hücrelerinden kaydedilen AP'lerin ortalama DMP, Tepe Noktası, APD25, APD50, APD75 ve APD90 değerleri hesaplanıp ortalama±SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10 ve Nket10 grupları için n=5, 10 miyosit hücresi, *p<0,05 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

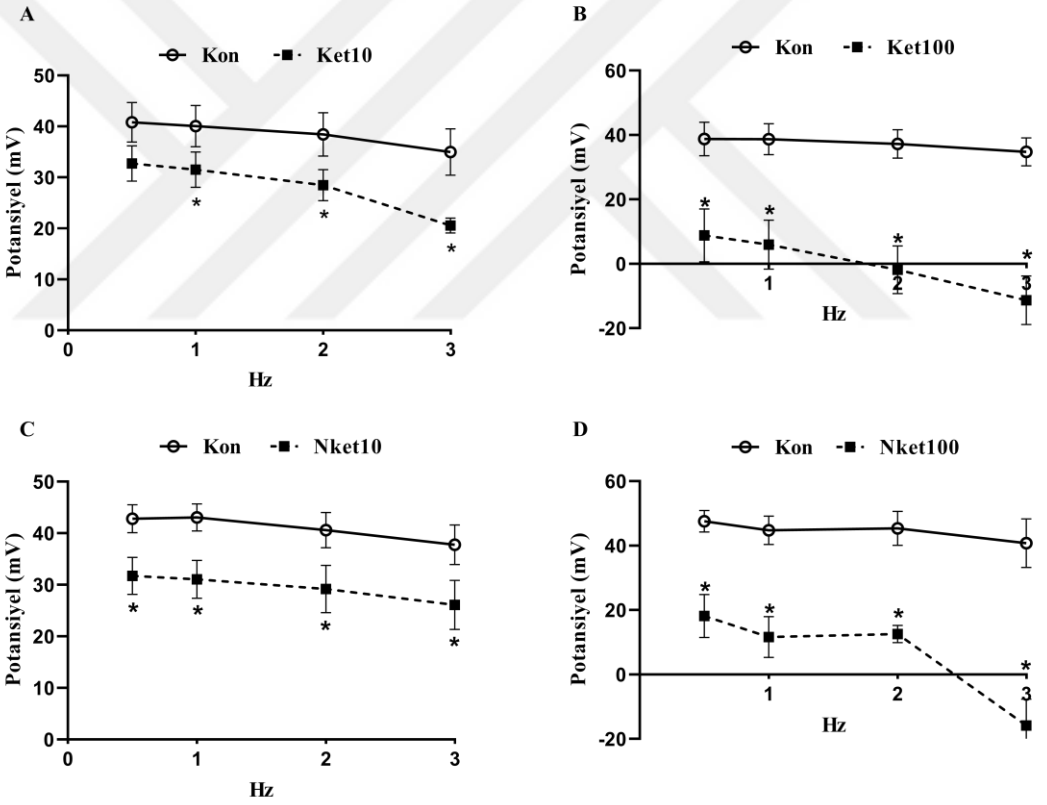
	DMP (mV)	Tepe Noktası (mV)	APD25 (ms)	APD50 (ms)	APD75 (ms)	APD90 (ms)
Kon	-66,17±0,79	40,05±4,04	2,99±0,73	8,57±1,43	26,41±4,07	53,29±5,10
Ket10	-66,48±0,86	31,52±3,45*	4,46±0,74*	12,02±1,71*	38,12±4,9	63,07±6,61
Kon	-66,19±0,85	43,07±2,72	4,29±1,36	15,17±4,36	25,99±5,93	36,89±6,15
Nket10	-65,27±0,75	31,07±3,68*	11,41±3,68*	23,37±6,08*	37,13±7,33*	49,05±7,39*

Sol ventrikül kalp hücrelerinde 100 µM Ket ve Nket'in potansiyel etkisini göstermek için farklı frekanslarda AP parametreleri kaydedildi. Yüksek konsantrasyon Ket ve Nket uygulama sonrası AP morfolojisini önemli ölçüde değiştirdi. Ket100 uygulaması sonrası 5 hücrenin 4'ünde, Nket uygulaması sonrası 8 hücrenin 7'sinde uyarı genliği ve süresi arttırılmasına rağmen AP tetiklenmedi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Farklı frekanslarda uyarılan hücrelerde ölçülen AP'nin karakteristiklerine yüksek konsantrasyonda Ket ve Nket'in etkisi. Sırasıyla 0,5, 1, 2 ve 3 Hz frekanslarda kaydedilen A) Ket100, B) Nket100 örnek AP traseleri. Ket100, Nket100 grupları için sırasıyla n=5 ve 8 miyosit.

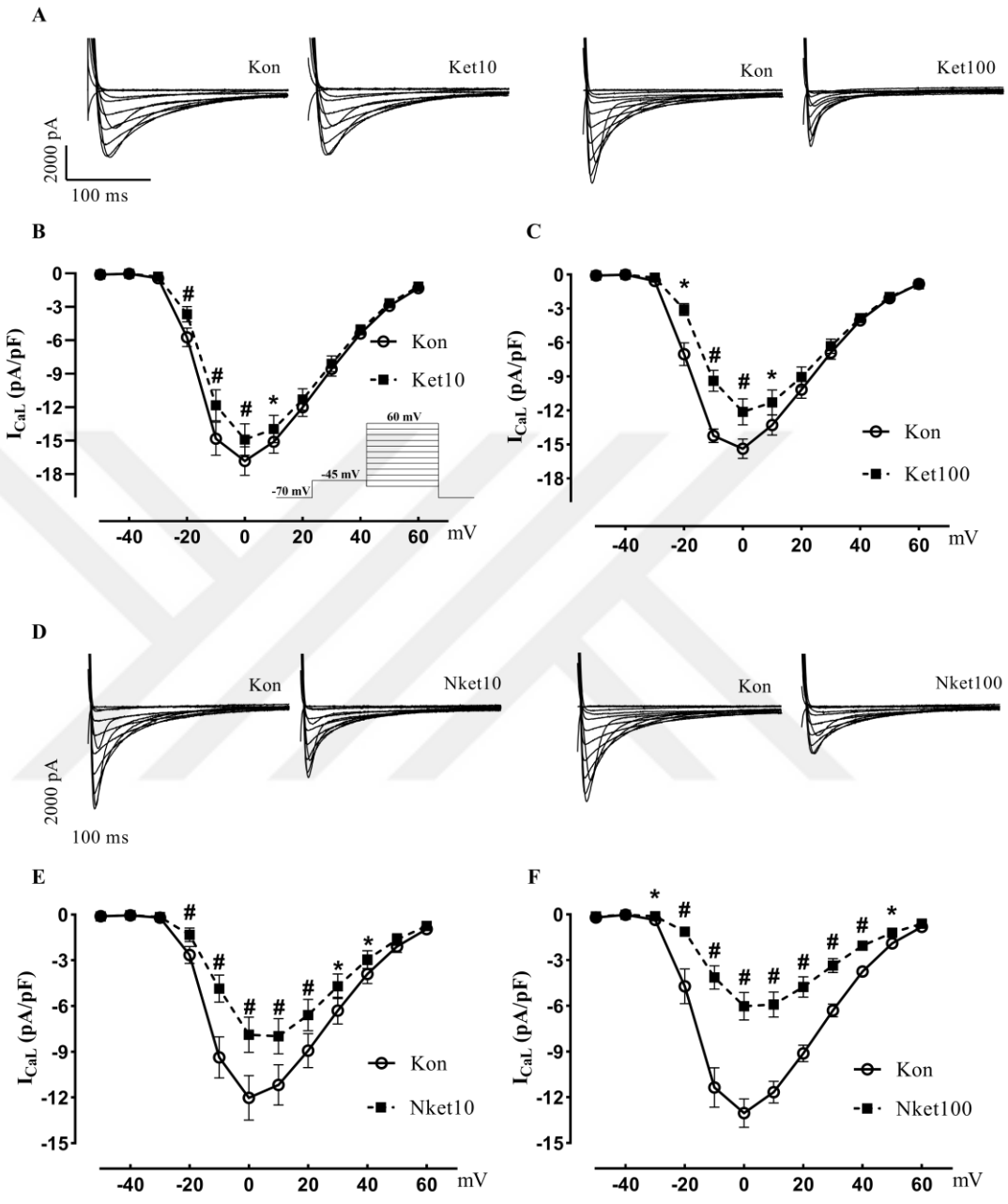
Na^+ kanallarının inaktif duruma geçtiği ve açılan K^+ kanalları ile repolarizasyon evresinin başladığı tepe noktalarında meydana gelen azalmanın frekans bağımlı olup olmadığına bakıldı. 0,5, 1, 2 ve 3 Hz frekanslarında uyarılan AP'ler kaydedildi ve tepe noktaları kıyaslandı. Ket10 uygulaması sonrası yalnızca 0,5 Hz'de AP'nin tepe noktasında anlamlı bir azalma gözlenmezken (Şekil 4.7A), yüksek konsantrasyonda Ket uygulaması sonrası tüm frekanslarda AP'nin tepe noktalarında anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 4.7B). Nket'in frekans bağımlı olarak AP'nin tepe noktalarında meydana getirdiği değişimi incelediğimizde hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlardaki tüm frekanslarda anlamlı bir azalma gözlendi (Şekil 4.7C, 4.7D).



Şekil 4.7. Farklı frekanslarda uyarılan hücrelerde ölçülen AP'nin tepe değerlerine Ket ve Nket'in etkisi. Sırasıyla 0,5, 1, 2 ve 3 Hz'lik frekanslarda kaydedilen A) Ket10, B) Ket100, C) Nket10 ve D) Nket100 için AP'nin tepe değerleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Ket10, Ket100, Nket10 ve Nket100 grupları için sırasıyla n=6, 8, 10, 7 miyosit. *p<0,001 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

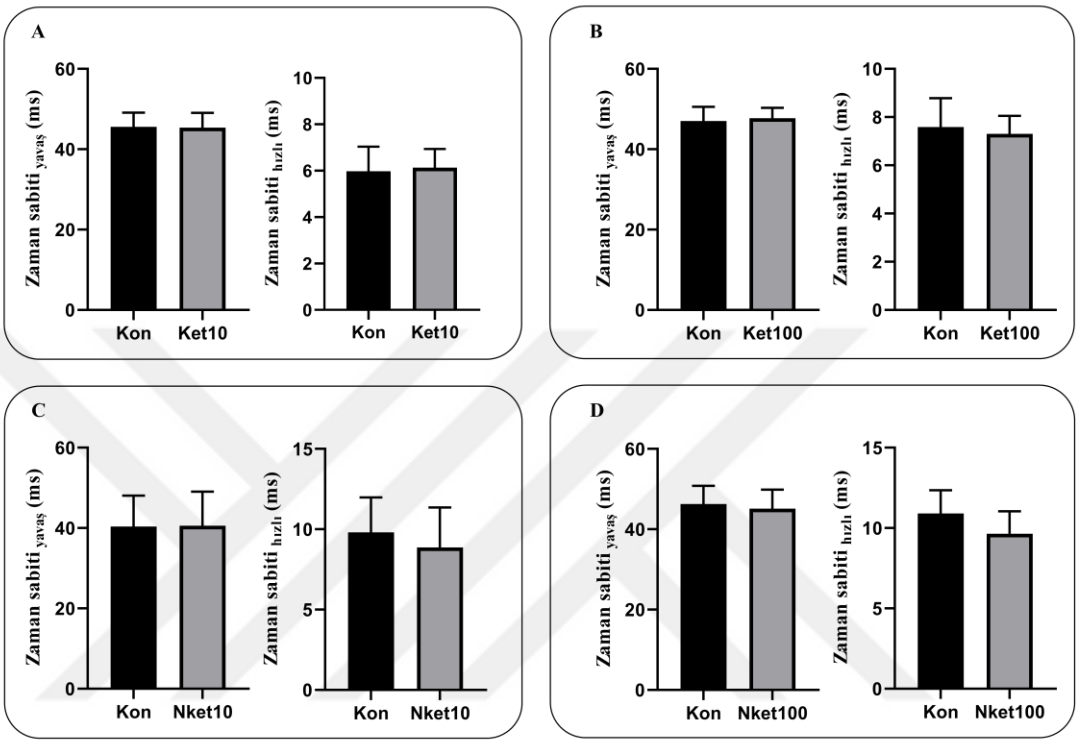
4.4. Ca^{+2} Akımları

Ca^{+2} iyonu AP'nin şeklinin oluşumunda etkili olmasının yanı sıra uyarılma-kasılma çiftleniminin düzenlenmesinde de başat role sahiptir. Kardiyak miyositlerde hücre dışı ortamdan hücre içerisine Ca^{+2} iyonunun alınmasını sağlayan en önemli kanal LTCC'dir. Hücre içerisine LTCC vasıtasıyla giren Ca^{+2} miktarı oldukça düşük olmakla birlikte kasılmanın başlayabilmesi için gereklidir. Çünkü, hücre içerisine giren düşük miktarda Ca^{+2}, SR üzerinde bulunan RyR2'yi aktive ederek hücre içi ortama daha fazla Ca^{+2} salınmasını tetiklerler ve böylelikle kasılma gerçekleşmiş olur. Bu nedenle çalışmamızda, Ca^{+2} regülasyonunda yüksek öneme sahip olan I_{CaL}'de meydana gelen değişimler ölçüldü. Şekil 4.8A ve 4.8D'de Ket ve Nket uygulamasının örnek akım kayıtları gösterildi. Akım yoğunluklarının potansiyele bağlı değişimi incelendiğinde akut Ket'in neden olduğu inhibisyonun konsantrasyona bağlı olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulundu (0 mV'de Kon: -16,82±1,27 pA/pF; Ket10: -14,89±1,41 pA/pF, Kon: -15,37±0,85 pA/pF; Ket100: -12,12±1,15 pA/pF, $p<0.01$, sırasıyla Şekil 4.8B ve 4.8C). Bunun yanında, Ket'in aktif metaboliti olan Nket'in neden olduğu inhibisyon da benzer şekilde konsantrasyona bağlı olarak arttı (0 mV'de Kon: -12,02±1,46 pA/pF; Nket10: -7,87±1,16 pA/pF, Kon: -13,03±0,92 pA/pF; Nket100: -6,01±0,91 pA/pF, $p<0,01$, sırasıyla Şekil 4.8E ve 4.8F). Nket'in, Ket'e kıyasla I_{CaL} üzerinde daha etkili olduğu gözlendi.



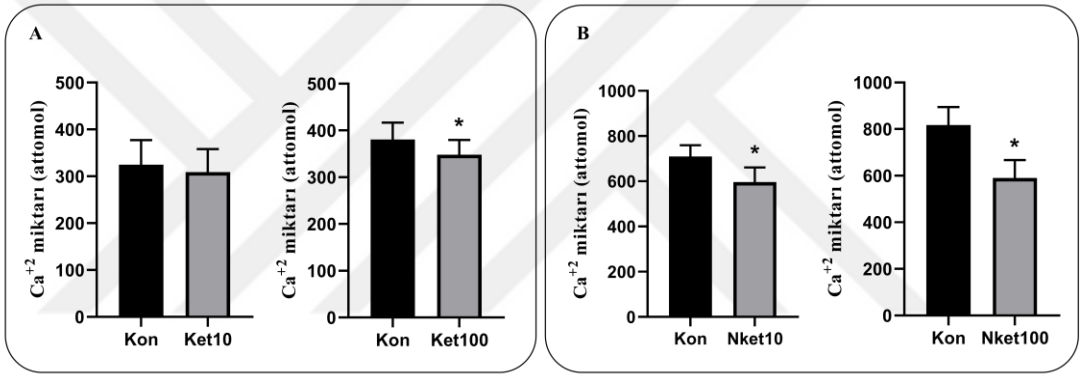
Şekil 4.8. Ket ve Nket'in I_{CaL}'nin potansiyel-akım ilişkisine etkisi. A) Farklı potansiyellerde kaydedilen örnek Ket I_{CaL} traseleri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak, –50 mV'dan 10 mV'luk artışlarla +60 mV'a 250 ms'lik depolarize edici pulslar uygulanarak 12 farklı voltaj seviyesinde akımlar kaydedildi, B ve C) Sol ventrikül miyositlerinden farklı Ket konsantrasyonlarında kaydedilen ortalama voltaj-akım grafikleri, D) Farklı potansiyellerde kaydedilen örnek Nket I_{CaL} traseleri, E ve F) Farklı Nket konsantrasyonlarında kaydedilen ortalama voltaj-akım grafikleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=10, 10, 9, 9 miyosit. *p<0,05 ve #p<0,01 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

Akım traselerinden elde edilen zaman sabitlerine bakıldığında her iki maddenin iki farklı konsantrasyonunda da bir fark görülmedi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Ket ve Nket'in LTCC akım kinetiklerine etkisi. A-B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması sonrasında elde edilen yavaş ve hızlı zaman sabitleri, C-D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrasında elde edilen yavaş ve hızlı zaman sabitleri. Ket10, Ket100, Nket10 ve Nket100 grupları için sırasıyla n=7, 12, 7, 8 miyosit. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi.

LTCC yoluyla hücre içine giren Ca^{+2} miktarları hesaplandı (Şekil 4.10). Bunun için elde ettiğimiz Ca^{+2} akım traselerinin altında kalan alan hücre içine giren toplam yük olarak değerlendirildi. Kon grubuna kıyasla yüksek dozda Ket'in akut uygulaması Ca^{+2} girişini anlamlı seviyede azalttı (Kon: 324,87±52,23 attomol; Ket10: 309,45±49,51 attomol; Kon: 380,43±36,45 attomol; Ket100: 348,13±31,50 attomol, $p<0,05$, Şekil 4.10A). Benzer şekilde Nket uygulaması da Kon grubuna kıyasla hem düşük hem de yüksek dozda Ca^{+2} girişini anlamlı seviyede azalttı (Kon: 709,52±50,26 attomol; Nket10: 596,31±64,85 attomol; Kon: 817,23±77,62 attomol; Nket100: 590,71±76,44 attomol, $p<0,05$, Şekil 4.10B).

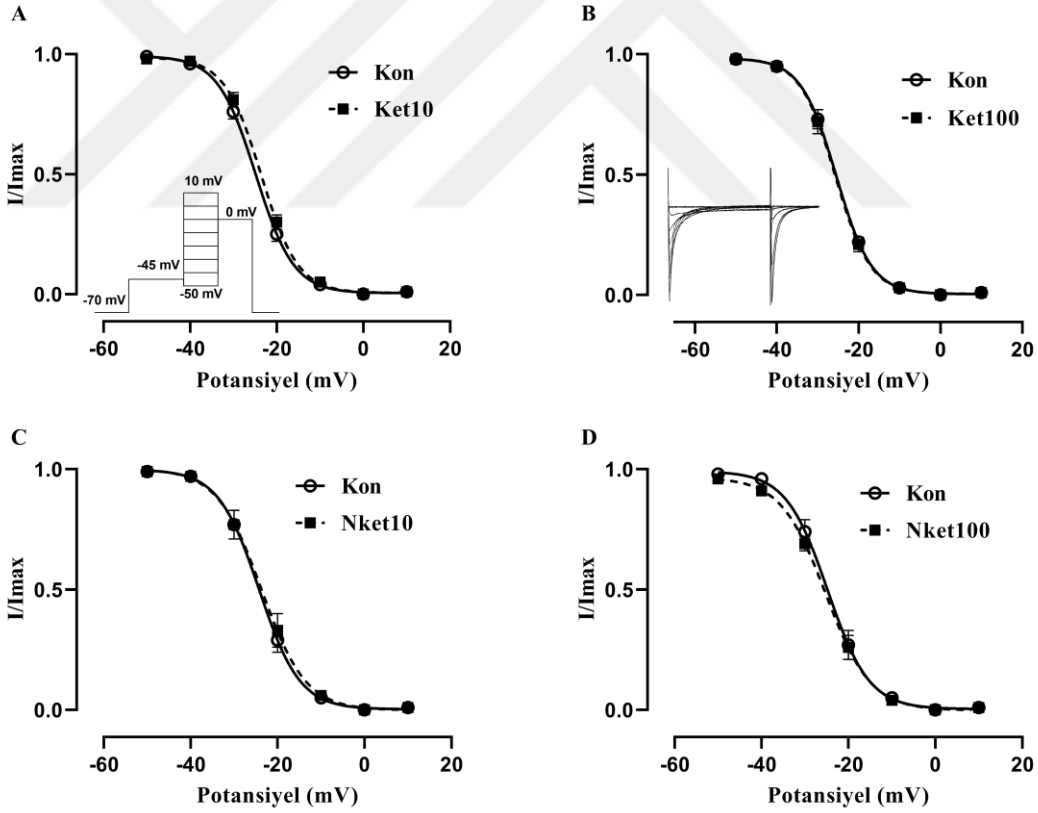


Şekil 4.10. LTCC'den hücre içine giren Ca^{+2} miktarının Ket ve Nket uygulamasına bağlı değişimi. A) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması sonrasında hücre içine giren Ca^{+2} miktarı, B) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrasında hücre içine giren Ca^{+2} miktarı. Ket10, Ket100, Nket10 ve Nket100 grupları için sırasıyla n=7, 12, 7, 8 miyosit. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. *$p<0,05$ Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

LTCC inaktivasyon kinetikleri incelendiğinde hem Ket hem de Nket uygulamalarının kanal inaktivasyon kinetiklerinde bir değişikliğe sebep olmadığı gözlendi (Tablo 4.2 ve Şekil 4.11). Ket10 uygulamasında inaktivasyonun %50 değerine ulaştığı potansiyel ($V_{1/2}$) ve eğim parametresi (*k)* değerleri Kon grubunun ortalama değerlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmadı. Aynı şekilde Ket100 uygulamasında elde edilen $V_{1/2}$ ve *k* değerleri ile Kon grubu ortalama değerleri arasında da anlamlı fark elde edilmedi. Buna ek olarak Ket'in aktif metaboliti olan Nket'in 10 µM ve 100 µM uygulamalarında da inaktivasyon parametrelerinde fark gözlenmedi.

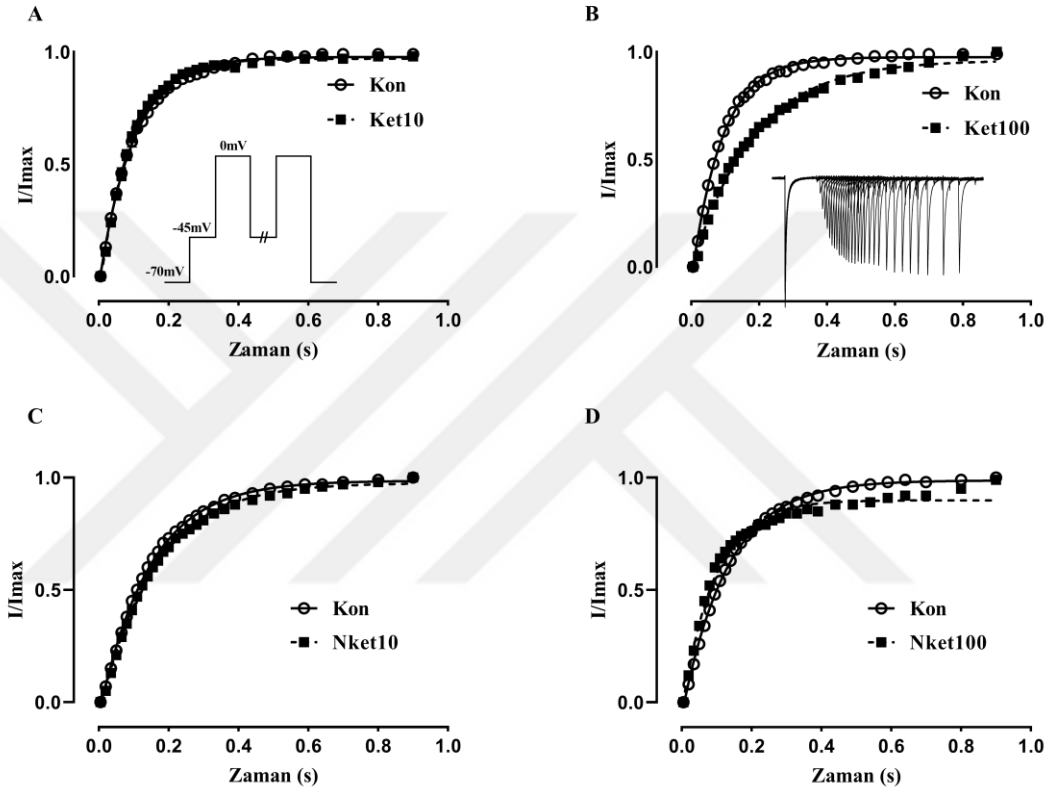
Tablo 4.2. Ket ve Nket varlığında kaydedilen Ca^{+2} akım yoğunluğu ve kinetik parametreleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. *p<0,05 ve #p<0,01 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

	Maks. Akım (pA/pF)	$V_{1/2}$ inakt. (mV)	k (inakt)	Tau (ms)
Kon	-16,82±1,27	-24,82±0,75	-4,31±0,10	0,101±0,01
Ket10	-14,89±1,41*	-23,51±0,66	-4,15±0,11	0,098±0,01
Kon	-15,37±0,85	-25,55±0,68	-4,27±0,14	0,095±0,01
Ket100	-12,12±1,15#	-25,94±0,83	-4,18±0,21	0,189±0,02#
Kon	-12,02±1,46	-24,45±1,26	-4,35±0,21	0,151±0,02
Nket10	-7,87±1,16#	-23,86±1,65	-4,53±0,16	0,164±0,02
Kon	-13,03±0,92	-24,91±1,35	-4,40±0,10	0,135±0,01
Nket100	-6,01±0,91#	-24,95±1,42	-4,79±0,22	0,105±0,01



Şekil 4.11. Ket ve Nket'in Ca^{+2} inaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. Boltzman denklemine fit edilerek elde edilen inaktivasyon eğrileri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak kayıtlar alındı. A ve B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması, C ve D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası elde edilen inaktivasyon eğrileri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Tüm grupları için n=6 miyosit.

Şekil 4.12'de verilen zamana bağlı reaktivasyon kinetikleri incelendiğinde Ket ve Nket uygulamasının yalnızca yüksek Ket konsantrasyonlarında anlamlı bir fark bulundu. Ket100 grubunun ortalama tau değeri (0,189±0,02 ms), Kon grubuna kıyasla (0,095±0,01 ms) yavaşladı (Şekil 4.12B). Tablo 4.2'de reaktivasyon kinetikleri detaylı olarak verildi.

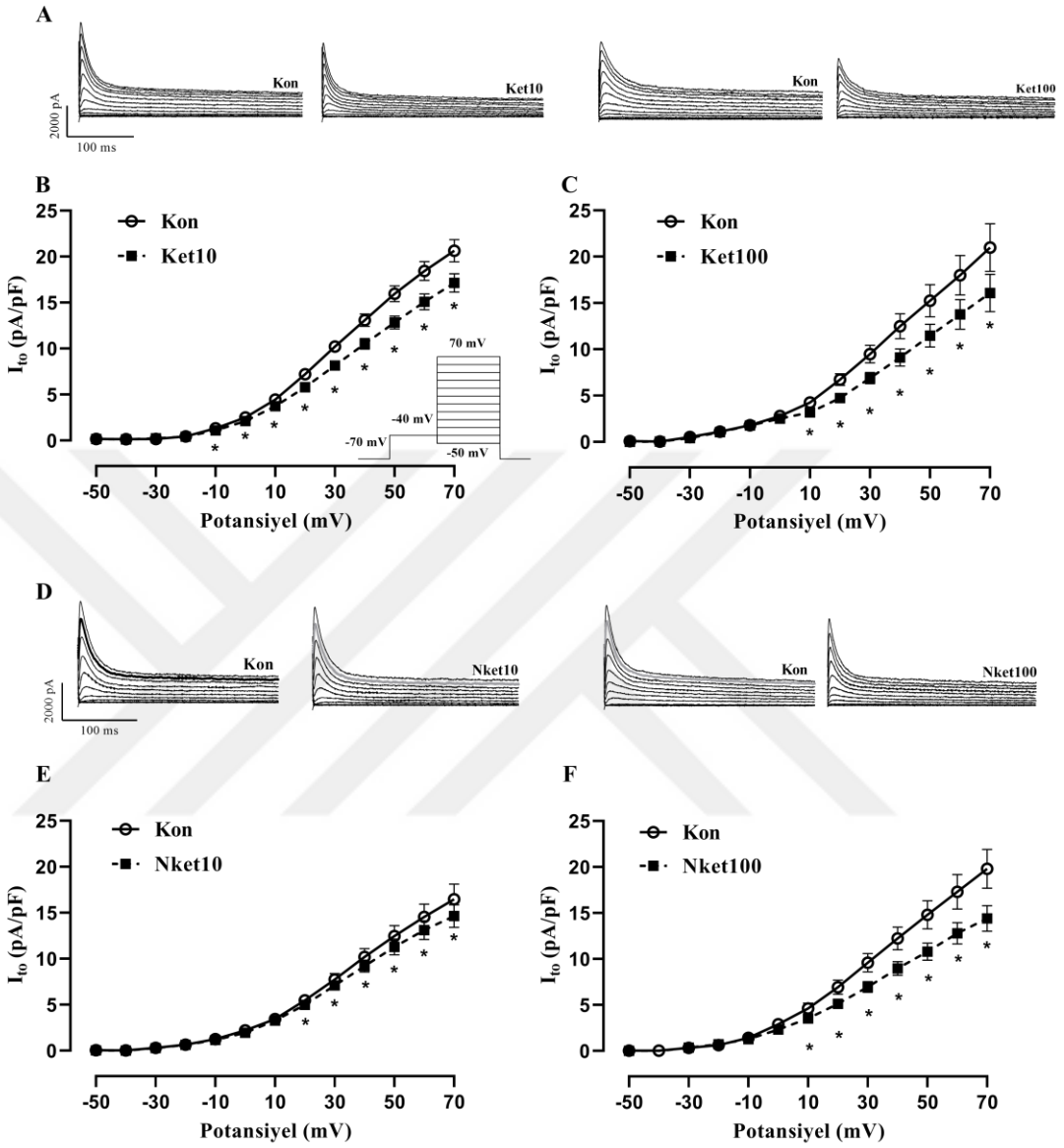


Şekil 4.12. Ket ve Nket'in Ca^{+2} reaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. I/Imax=[1-exp(-t/τ)] üssel fonksiyonu uydurulması ile elde edilen reaktivasyon eğrileri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak kayıtlar alındı. A ve B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması, C ve D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası elde edilen reaktivasyon eğrileri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=6, 6, 6, 5 miyosit.

4.5. Potasyum Akımları

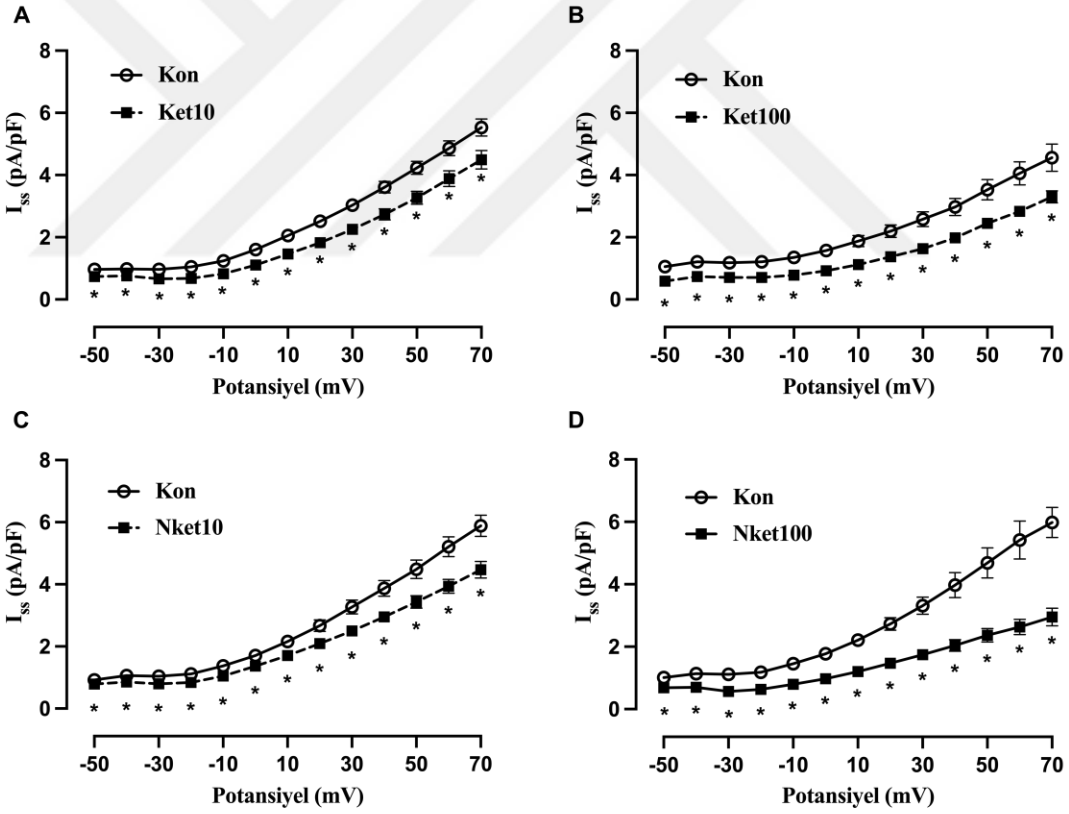
AP'de meydana gelen uzamanın temel nedenlerinden bir tanesinin I_K'da meydana gelen değişimler olduğu literatürde iyi bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda AP süresi ve genliğindeki Ket ve Nket uygulamasına bağlı değişimlerin nedenini açıklayabilmek amacıyla I_{to} ve I_{ss} incelendi.

Farklı konsantrasyonlarda Ket veya Nket hücre üzerine akut olarak uygulandı ve örnek kayıtlar Şekil 4.13A ve 4.13D'de verildi. Elde edilen akım kayıtlarında, I_{to} tepe değerleri Kon grubuna kıyasla Ket10 ve Ket100 uygulaması sonrasında anlamlı ölçüde baskılandı (+70 mV'de; Kon: 20,62±1,20 pA/pF; Ket10: 17,13±0,99 pA/pF; Kon: 20,98±2,57 pA/pF; Ket100: 16,08±2,02 pA/pF, $p<0,01$) (Şekil 4.13B ve 4.13C). Nket'in neden olduğu inhibisyon da konsantrasyona bağlı olarak arttı (+70 mV'de Kon: 16,46±1,65 pA/pF; Nket10: 14,64±1,22 pA/pF; Kon: 19,80±2,11 pA/pF; Nket100: 14,40±1,38 pA/pF, $p<0,01$) (Şekil 4.13E ve 4.13F). Bu verilere dayanarak Ket uygulamasının I_K üzerinde belirgin bir inhibisyona sebep olduğu söylenebilir.



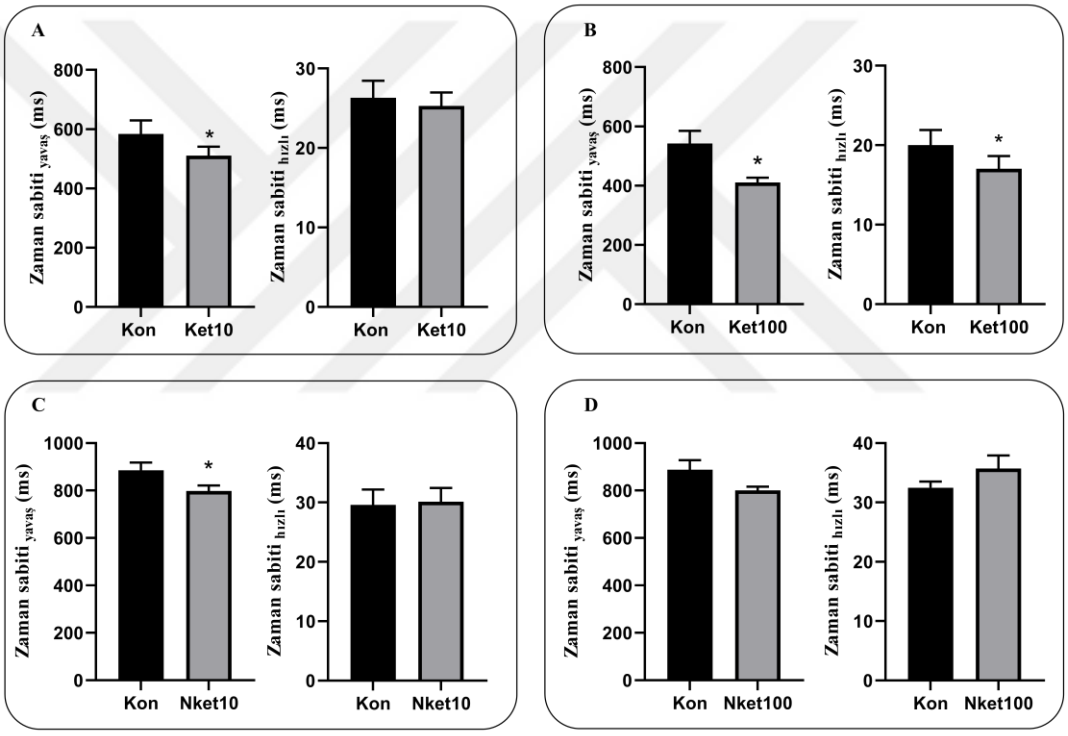
Şekil 4.13. I_{to}'nun potansiyele bağlı değişimi üzerine Ket ve Nket'in etkisi. A) Farklı potansiyellerde kaydedilen örnek Ket I_{to} traseleri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak –50 mV'den 10 mV'luk artışlarla +70 mV'a 3 sn'lik depolarize edici pulslar uygulanarak 13 farklı voltaj seviyesinde kaydedildi. B ve C) Sol ventrikül miyositlerinden farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması sonrası elde edilen ortalama potansiyel-akım grafiği, D) Farklı potansiyellerde kaydedilen örnek Nket I_{to} traseleri. E ve F) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası elde edilen ortalama potansiyel-akım grafiği. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=20, 12, 12, 12 miyosit. Ket grubundan fark *p<0,01 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

Ket ve Nket uygulaması sonrası I_{ss}'de meydana gelen azalmanın I_{to}'dan daha belirgin olduğu gözlendi. Kon grubuna kıyasla her iki konsantrasyonda hem Ket hem de Nket uygulaması tüm potansiyellerde istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden oldu (Şekil 4.14). Elde edilen akım kayıtlarında, I_{ss} değerleri Kon grubuna kıyasla Ket10 ve Ket100 uygulaması sonrasında bütün potansiyellerde anlamlı ölçüde baskılandı (+70 mV'de; Kon: 5,52±0,27 pA/pF; Ket10: 4,49±0,30 pA/pF; Kon: 4,56±0,44 pA/pF; Ket100: 3,29±0,19 pA/pF, p<0,01) (Şekil 4.14A ve 4.14B). Nket'in neden olduğu inhibisyon Ket uygulamasına kıyasla daha belirgindi. Nket inhibisyonu konsantrasyona ve potansiyele bağlı olarak arttı (+70 mV'de Kon: 5,88±0,34 pA/pF; Nket10: 4,47±0,26 pA/pF; Kon: 5,98±0,48 pA/pF; Nket100: 2,95±0,28 pA/pF, p<0,01) (Şekil 4.14C ve 4.14D).



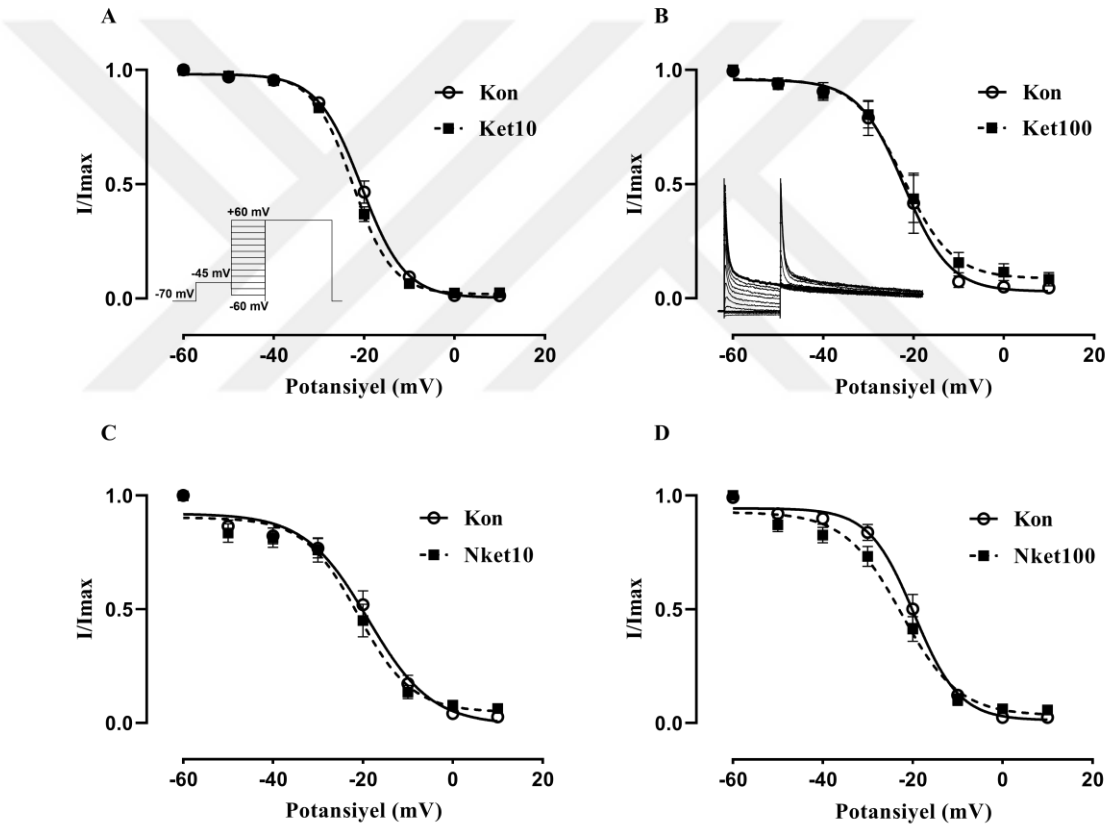
Şekil 4.14. I_{ss}'nin potansiyele bağlı değişimi üzerine Ket ve Nket'in etkisi. A ve B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması sonrası kaydedilen I_{ss}, C ve D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası kaydedilen I_{ss}. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. *p<0,01 Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=20, 12, 12, 12 miyosit.

+50 mV'de kaydedilen akımın azalma fazı eksponansiyel fonksiyona fit edilerek hızlı ve yavaş zaman sabitleri belirlendi. Düşük konsantrasyonda Ket uygulaması, Kon grubuna kıyasla sadece yavaş zaman sabitinde anlamlı bir azalmaya neden olurken (Kon: 583,51±46,06 ms; Ket10: 510,89±29,96 ms, $p<0,05$, Şekil 4.15A), yüksek konsantrasyonda Ket uygulaması hem yavaş hem de hızlı zaman sabitinde anlamlı azalmaya neden oldu (Sırasıyla Kon: 542,03±42,68 ms; Ket100: 411,15±5,73 ms; Kon: 20,00±1,91 ms; Ket100: 17,03±1,60 ms, $p<0.05$, Şekil 4.15B). Nket uygulama sonrası düşük konsantrasyonda yavaş zaman sabitinde anlamlı bir azalma gözlenirken (Kon: 885,79±72,58 ms; Nket10: 797,74±53,47 ms, $p<0,05$, Şekil 4.15C), yüksek konsantrasyondaki azalma anlamlı seviyeye ulaşamadı (Şekil 4.15D).

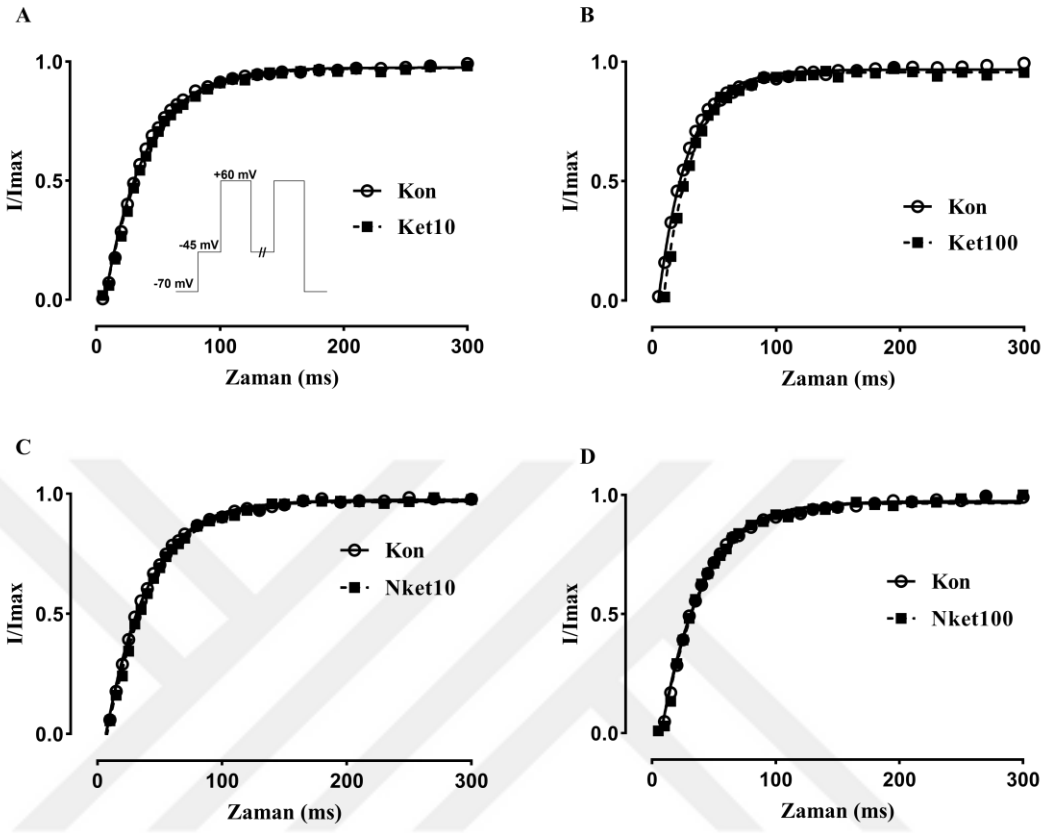


Şekil 4.15. Ket ve Nket'in K^+ kanallarının kapanma kinetiklerine etkisi. A ve B) Ket uygulama sonrası farklı konsantrasyonlarda yavaş ve hızlı zaman sabitleri, C ve D) Nket uygulama sonrası farklı konsantrasyonlarda yavaş ve hızlı zaman sabitleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. *$p<0,05$ Kon grubuna göre anlamlılığı ifade etmektedir.

Potasyum kanallarının voltaj bağımlı inaktivasyon kinetikleri incelendiğinde, Ket uygulaması sonrası ne düşük ne de yüksek konsantrasyonda anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.16A ve 4.16B). Nket uygulaması sonrası inaktivasyon eğrilerinde düşük dozda anlamlı fark görülmemesine rağmen yüksek dozda anlamlı bir değişim gözlendi (Şekil 4.16C ve 4.16D). Buna ek olarak kanalın zaman bağımlı reaktivasyon kinetiklerinde de gruplar arasında anlamlı bir değişim elde edilmedi (Şekil 4.17). Ket ve Nket uygulamalarının iki farklı konsantrasyonu için elde edilen I_{to} akım yoğunluğu ve kinetik parametreleri Tablo 4.3'te özetlenmiştir.



Şekil 4.16. Ket ve Nket'in K^+ inaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. Boltzman denkleminin uydurulması ile elde edilen inaktivasyon eğrileri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak kayıtlar alındı. A ve B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması, C ve D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası elde edilen inaktivasyon eğrileri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=15, 10, 8, 7 miyosit.



Şekil 4.17. Ket ve Nket'in K^+ reaktivasyon kinetikleri üzerine etkisi. I/Imax=[1-exp(-t/τ)] üssel fonksiyonu uydurulması ile elde edilen reaktivasyon eğrileri. Grafiğin içinde verilen voltaj protokolü kullanılarak kayıtlar alındı. A ve B) Farklı konsantrasyonlarda Ket uygulaması, C ve D) Farklı konsantrasyonlarda Nket uygulaması sonrası elde edilen reaktivasyon eğrileri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. Sırasıyla Ket10, Ket100, Nket10, Nket100 grupları için n=12, 8, 5, 5 miyosit.

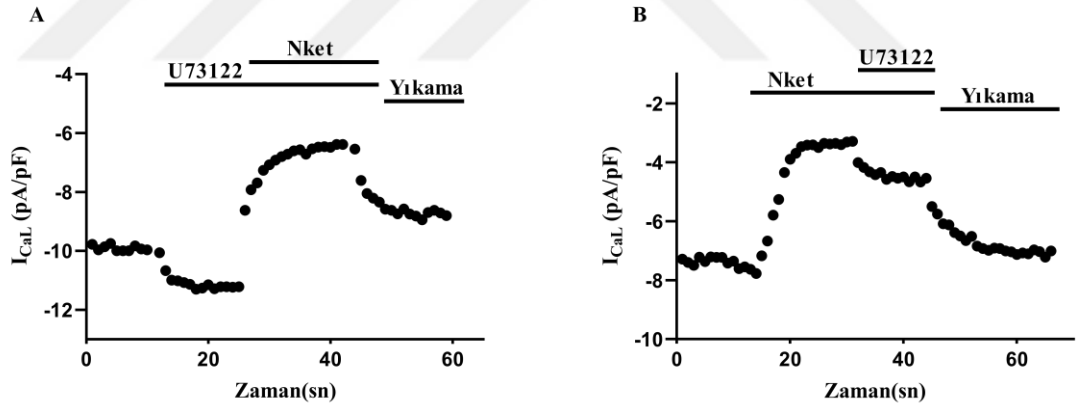
Tablo 4.3. Ket ve Nket varlığında kaydedilen I_{to} akım yoğunluğu ve kinetik parametreleri. Değerler ortalama ± SEM olarak verildi. *p<0,05 ve #p<0,001 Kon grubuna göre istatistik anlamlılığı ifade etmektedir.

	Maks. Akım (pA/pF)	$V_{1/2}$ inakt (mV)	*k* (inakt)	Tau (ms)
Kon	20,62±1,20	-20,49±0,95	-4,28±0,17	33,41±2,68
Ket10	17,13±0,99#	-22,43±0,57	-4,17±0,12	35,19±2,49
Kon	19,82±1,93	-19,77±1,31	-4,35±0,35	20,32±2,92
Ket100	14,74±1,62#	-22,38±0,87	-4,66±0,15	21,28±3,41
Kon	16,47±1,65	-20,19±1,90	-6,47±0,97	33,80±5,53
Nket10	14,65±1,23*	-20,40±0,40	-4,73±0,40	35,21±4,88
Kon	19,81±2,12	-19,73±1,35	-4,59±0,33	33,75±5,16
Nket100	14,40±1,38#	-23,11±1,93*	-6,47±1,12	33,84±4,13

4.6. Ket ve Nket'in Etki Mekanizması

4.6.1. PLC Üzerine Etkisi

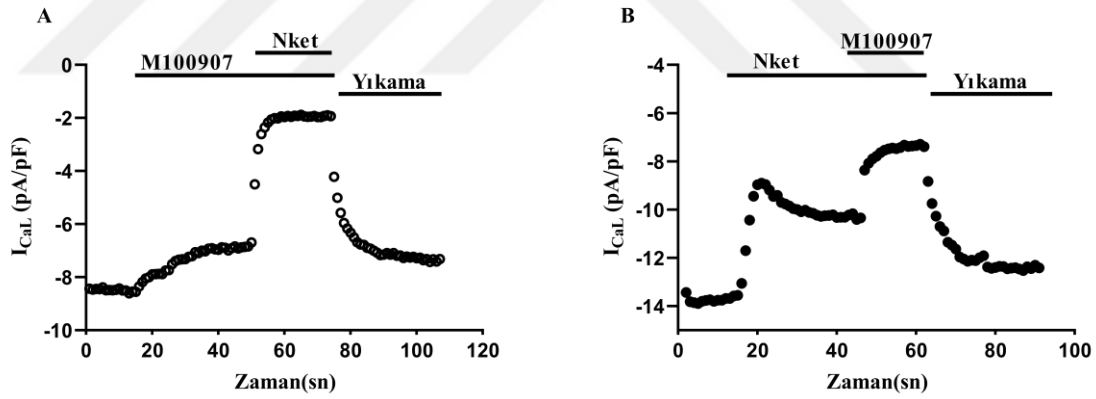
Nket'in I_{CaL} üzerine olan inhibitör etkisinin PLC-inositol trifosfat (IP_3) yolağı ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için spesifik PLC inhibitörü U73122 (5 µM) kullanıldı. U73122'nin fosfatidilinositolün (PPI) IP_3 hidrolizini önleyerek serbest sitozolik kalsiyum miktarında bir azalmaya yol açan PLC inhibitörü olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda, cAMP üretimini etkilemeden, G-protein PLC aktivasyonunun etkileşimini engellediği bilinmektedir. Çalışmamızda U73122 uygulanan hücrelerde I_{CaL}'ı %6,92±1,77 arttığı görüldü. Ancak U73122 ile beraber Nket (100 µM) uygulandığında %27,62±3,04 düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu belirlendi (n=7, Şekil 4.18A). Öte yandan Şekil 4.18B'de Nket uygulamasının I_{CaL}'yi %37,3±11,56 azalttığı, Nket ile beraber U73122 uygulamasının ise I_{CaL}'yi %6,33 oranında geri döndürdüğü görüldü (n=4). Elde ettiğimiz bulgular Nket etkisinin PLC üzerinden gerçekleşmediğini gösterdi.



Şekil 4.18. U73122 varlığında Nket'in I_{CaL} üzerine etkisi. Nket ve U73122'nın A ve B) 0 mV'ta I_{CaL} üzerine etkileri.

4.6.2. Serotonin 2A Reseptörünün Rolü

Ket, geniş reseptör bağlanma profiline sahiptir. 5HT2A, H_1 ve D_1 ve D_2 reseptörlerin yanı sıra α_1-α_2 ve M_1 reseptörlere de afinitesi vardır. 5HT2A reseptörünün Ket'e afinitesinin yüksek olduğu bilinmektedir. Ket'in aktif metabolitinin I_{CaL} üzerine olan inhibitör etkisini 5HT2A reseptörü üzerinden gerçekleştirip gerçekleştirmediğini belirlemek için seçici 5HT2A reseptör antagonisti M100907 (1 µM) kullanıldı. Çalışmamızda M100907 verilen hücrelerde I_{CaL}'yi %9,76±4,8 azaldığı görüldü. Ancak M100907 ile beraber Nket (100 µM) uygulandığında I_{CaL}'de %52,24±8,58 oranında bir azalma gözlendi (n=7, Şekil 4.19A). Öte yandan Nket uygulanan hücrelerde I_{CaL}'yi %30,62±6,55 azalttığı, Nket ile beraber M100907 uygulamasının Kon hücrelerine kıyasla %38,23±6,54 oranında bir azalmaya neden olduğu belirlendi (n=4, Şekil 4.19B). Elde ettiğimiz bulgular, Nket'in I_{CaL} üzerinde oluşturduğu inhibitiör etkiyi 5HT2A reseptörü üzerinden gerçekleştirmediğini göstermektedir.



Şekil 4.19. M100907 varlığında Nket'in I_{CaL} üzerine etkisi. Nket ve M100907'nin A ve B) 0 mV'ta I_{CaL} üzerine etkileri.

5. TARTIŞMA

Antipsikotik ilaçlar günümüzde şizofreni ve bipolar bozukluk başta olmak üzere birçok psikiyatrik hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. 1950'li yıllarda ortaya çıkan bu ilaçlar zamanla daha etkili tedaviler sunmakla birlikte daha az yan etki göstermektedir. Ket her ne kadar şizofreni tedavisi için geliştirilmiş olsa da geniş reseptör bağlanma profili nedeniyle depresyon, bipolar bozukluk ve majör depresif bozukluk gibi çeşitli nöropsikiyatrik hastalıklarda da etkili tedaviler sunmaktadır (McIntyre ve ark., 2005; Hirschfeld ve ark., 2006; Thase ve ark., 2006; Bauer ve ark., 2009; Komossa ve ark., 2010). Atipik antipsikotik ilaçlar farmakolojik etkilerini 5HT2A ve D2 reseptörlerini bloke ederek göstermektedirler (Kapur ve ark., 2000b). Bu reseptörlerin yanı sıra antipsikotik ilaçların diğer serotonerjik, dopaminerjik, muskarinik, adrenerjik ve histaminerjik reseptörlere de afiniteleri vardır. İlaçların bu reseptörlere bağlanma afiniteleri aynı zamanda yan etki profilini oluşturmaktadır.

Günümüzde, reçeteli olarak 'seroquel' adı altında satılan Ket, 2. jenerasyon antipsikotik ilaçlar sınıfında yer almaktadır. Diğer antipsikotiklere kıyasla yan etkilerinin az olmasından dolayı en çok kullanılan antipsikotikler arasındadır. Ket alındıktan yaklaşık 1-1,5 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır. 25 mg/gün düşük doz oral uygulaması sonrası ortalama plazma konsantrasyonunun 17.3 – 90.4 µg/L, 800 mg/gün yüksek doz uygulaması sonrası ise 21.5 – 169 µg/L aralığında olduğu gösterilmiştir (Devane ve Nemeroff, 2001). Her ne kadar Ket kullanımı 800 mg/gün ile sınırlandırılmış olsa da daha yüksek dozlarda da kullanılabildiğini ve kullanılan bu yüksek dozlarda tedavinin etkisinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Devane ve Nemeroff, 2001; Citrome ve ark., 2005; Pierre ve ark., 2005; Pajonk ve ark., 2006).

Çalışmamızda kullanılacak dozun belirlenmesi için doz yanıt eğrisi oluşturuldu. Doz yanıt eğrisinin oluşturulması için farklı konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulamasının 0 mV'de I_{CaL}'de meydana getirdiği değişimler değerlendirildi. I_{CaL}'de meydana gelen maksimum inhibisyonun yarısına karşılık gelen konsantrasyon IC_{50} değeri olarak kaydedildi. IC_{50} değeri Ket için 201 µM, Nket için 53 µM olarak hesaplandı. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda Nket konsantrasyonunun farmakolojik olarak Ket'e

kıyasla daha etkin olduğu görülmektedir. Lee ve ark. hERG K^+ kanalları üzerine Ket ve Nket etkisini inceledikleri çalışmada hERG kararlı durum akımlarının konsantrasyona bağlı olarak azaldığını, IC_{50} değerini Ket için 8,3 μM, Nket için 10,8 μM olarak göstermişlerdir (Lee H. J. ve ark., 2018). Kim ve ark. $hNa_v1.5$ akımları üzerine Ket ve Nket etkisini inceledikleri çalışmada IC_{50} değerini Ket için 30 μM, Nket için 6 μM olarak bulmuşlardır (Kim ve ark., 2020). Çalışmamızda literatürde kullanılan ve tedavi edici doza yakın doz olarak kabul ettiğimiz 10 μM düşük doz ve IC_{50} değerlerine yakın ve yüksek doz kabul ettiğimiz 100 μM olmak üzere 2 farklı doz kullanıldı.

Kardiyomiyositlerin kasılma fonksiyonlarını düzgün bir şekilde devam ettirmesinde ve elektriksel sinyalin iletiminde Ca^{+2} kilit rol oynamaktadır (McDonough ve Glembotski, 1992). Ca^{+2} homeostazının bozulması kasılma fonksiyonlarının bozulmasına ve sonuçta kardiyak disfonksiyona neden olmaktadır (Barbagallo ve ark., 2016; Wang Q. ve ark., 2017). Ayrıca kalbin inotropik özelliğinin korunması, Frank-Starling yasasının sürdürülebilmesi adına büyük önem taşımaktadır. Bu yasaya göre kalbe geri dönen kanı karşılayacak miktarda aorta kan pompalanması gerekmektedir (Sequeira ve Velden, 2015). Kasılmanın azaldığı durumlarda aorta pompalanan kan hacmi de azalacaktır. Çalışmamızda öncelikle kardiyomiyositler üzerine artan konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulamasının oluşturabileceği fonksiyonel değişiklikleri değerlendirmek için kasılma parametreleri incelendi. Bu yöntem potansiyel inotropik ve lusitropik etkileri olan farklı ilaçların etkilerini göstermek ve kalbin genel durumu hakkında bilgi sahibi olmak için literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır (Delbridge ve ark., 1997; Ren ve Wold, 2001; Butler ve ark., 2015). Hem Ket hem de Nket uygulaması sonrası fraksiyonel kısalmanın, kasılma ve gevşeme hızlarının konsantrasyona bağlı olarak azaldığı gözlendi. Elde edilen kasılma ölçümlerinin sonuçları Ket ve Nket uygulamalarının negatif inotropik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Deguchi ve ark. yayınladıkları bir olgu sunumunda bipolar bozukluğu olan genç bir hastada Ket kullanımı sonrası prematüre ventriküler kasılmalar gözlendiğini göstermişlerdir (Deguchi ve ark., 2012). Achalia ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da antipsikotik bir ilaç olan iloperidon kullanan genç şizofrenik bireyde aynı şekilde prematüre ventriküler kasılmaların gerçekleştiği bildirilmiştir (Achalia ve Andrade, 2013). Başka bir çalışmada tipik antipsikotik haloperidolün izole tavşan kalp hücrelerinde tedavi edici aralıklarda negatif inotropik etkiye sahip olduğu ve

bu etkinin hücre içine giren Ca^{+2} miktarında meydana gelen azalmadan kaynaklandığı rapor edilmiştir (Hatip-Al-Khatib ve ark., 2002). Aynı şekilde güçlü bir tipik antipsikotik olan pimozidinin LTCC'yi bloke ederek negatif inotropik etkiye sebep olduğu da literatürde gösterilmiştir (Enyeart ve ark., 1990). Sonuç olarak çalışmamızda Ket ve Nket'in, farklı antipsikotiklerin kardiyomiyositler üzerinde oluşturduğu negatif inotropik etkilere benzer etkiler oluşturduğu gösterildi.

SA düğümde başlayan elektriksel uyarının kalp boyunca düzgün bir şekilde yayılması hücrelerin düzenli bir şekilde kasılması ve gevşemesi için büyük önem taşımaktadır. AP morfolojisinde meydana gelebilecek değişimler kasılma ve gevşeme sürecini önemli ölçüde etkileyecektir (Schmitt ve ark., 2014). Özellikle bu süreçte görevli olan Ca^{+2} ve K^{+} akımlarında meydana gelen değişimler AP süresini ve dolayısıyla QT aralığını etkileyecektir. Bu aralığın uzaması aritmilerin oluşmasına ve ölümle sonuçlanabilen polimorfik ventriküler taşikardi formu olan TdP oluşmasına da neden olabilir (Walker ve ark., 1993; Mace ve ark., 2003; Viskin ve ark., 2003). Tipik ve atipik antipsikotiklerin repolarizasyonda görevli K^{+} kanallarına etki ederek QTc aralığını uzattığı ve ventriküler kasılma fonksiyonu bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (Achalia ve Andrade, 2013). Tipik antipsikotiklerin neden olduğu kardiyak aritmi ve ani kalp durması riski her ne kadar daha yüksek olarak bilinse de (Liperoti ve ark., 2005), yeni geliştirilen atipik antipsikotikler de özellikle I_K başta olmak üzere, AP süresini etkileyebilecek akımlara direk etki ederek bu sürede uzamaya neden olabilir. AP süresinin uzamasının, uzun QT sendromu ve aritmilere neden olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (Gluais ve ark., 2002; Stöllberger ve ark., 2005; Lee S. Y. ve ark., 2006; Lee H. J. ve ark., 2018).

Antipsikotiklerin AP süresi üzerine etkileri literatürde detaylı olarak araştırılmıştır. Drici ve ark. 5 farklı antipsikotik ilacın QT aralığında meydana getirdiği uzamaları kıyaslamışlardır ve sonuçta 5 ilacın da konsantrasyona bağlı olarak QT aralığında uzamaya neden olduğunu, özellikle haloperidol ve risperidonda bu uzamanın daha belirgin olduğunu göstermişlerdir (Drici ve ark., 1998). Başka bir çalışmada QT aralığının Ket'in dozu ile orantılı olarak uzadığı gözlenmiştir (Melada ve ark., 2016). Hasnain ve ark. ise yaptıkları çalışmada tedavi edici dozlarda Ket uygulamasının QT aralığında bir değişim oluşturmadığını, fakat başka ilaçlarla birlikte kullanıldığında bu aralığın

etkilenebileceğini vurgulamışlardır (Hasnain ve ark., 2014). FDA 2013 yılında tavsiye edilen dozlarda Ket kullanımının da QT aralığında uzamaya ve hatta TdP'ye neden olduğu konusunda bir genelge yayınlamıştır (AstraZeneca Pharmaceuticals, 2013). Çalışmamızda Ket ve Nket uygulaması sonrası AP morfolojisinde anlamlı değişimler gözlendi. Düşük dozda Ket uygulaması sonrası AP repolarizasyon fazının erken döneminde uzama gözlenirken düşük doz Nket uygulaması sonrası AP'nin repolarizasyon fazının tamamında anlamlı bir uzama gözlendi. Bununla birlikte yüksek doz Ket ve Nket uygulaması kontrol hücrelerine kıyasla AP morfolojisini önemli ölçüde değiştirdi.

Bilindiği üzere faz 0'da membran potansiyelinin eşik değere ulaşmasıyla birlikte çok sayıda Na^+ kanalı aktif hale gelir ve hücre içerisine yüksek miktarda pozitif yük girişi gerçekleşir ve AP'nin sıçrama fazını oluşturur. Özellikle yüksek dozda Ket ve Nket uygulaması, Na^+ kanallarının açılıp kapanma kinetiklerini etkileyerek Na^+ kanallarının eş zamanlı açılmasını engelliyor olabilir. Bu nedenle uyaran şiddeti arttırılsa bile Na^+ kanallarının eşzamanlı olarak uyarılmaması ve (kanalların bir kısmı inaktif durumda olabilir) membran potansiyelinin eşik değere ulaşmaması nedeniyle AP morfolojisinde önemli değişimler gözlenebilir. Elde ettiğimiz sonuçlar Ket'in antiaritmik ilaçlar gibi Na^+ kanalları üzerinde önemli etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Kardiyak AP ve aritmojenik aktiviteler üzerine özellikle geç Na^+ akımlarının etkisi günümüzde detaylı olarak araştırılmaktadır (Horvath ve ark., 2013). Aktivasyon durumunda hücre içine giren Na^+ iyonları AP tepe noktasının belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu akımlarda meydana gelen azalma veya aktivasyon ve reaktivasyon kinetiklerinin değişmesi AP tepe noktasının değişmesine neden olacaktır. Kim ve ark. yaptıkları çalışmada Nket uygulamasının Nav1.5 akımlarını konsantrasyona bağlı olarak bloke ettiğini ve I_{Na}'nın baskılanmasının AP süresinin kısalttığını ve QT aralığının uzaması riskini azalttığını göstermişlerdir (Kim ve ark., 2020). Yaptığımız çalışmada hem Ket hem de Nket konsantrasyona bağlı olarak AP'nin ulaştığı maksimum değeri önemli oranda düşürdü. Özellikle yüksek dozda Ket ve Nket, AP tepe noktasını negatif potansiyellere kadar düşürdü. Ayrıca AP'nin morfolojisinde meydana gelen değişimin frekans bağımlı olduğu ve özellikle tepe değerlerinin frekansa bağımlı olarak azaldığı gözlendi. Çalışmamızla tutarlı olarak insan $Na_v1.5$ kanallarının eksprese edildiği HEK293

hücrelerinden elde edilen akım genliklerinin Nket uygulaması sonrası frekansa bağımlı olarak azaldığı da Kim ve ark. tarafından gösterilmiştir (Kim ve ark., 2020). Elde ettiğimiz sonuçlar kardiyak AP'de Ket ve Nket'in Na^+ kanallarını da önemli ölçüde etkilediğini düşündürmektedir. İleriki çalışmalarda antipsikotiklerin kardiyak hücrelerde I_{Na} üzerine etkileri detaylı olarak çalışılıp literatürdeki bu eksiklik doldurulabilir.

Negatif membran potansiyellerinde I_{K1} geçirgenliği diğer K^+ akımlarına göre daha fazladır ve hücrenin K^+ denge potansiyeline yakın bir değerde kalmasında önemli katkısı vardır (Huang, 2017; Ozturk ve ark., 2021b). Antipsikotik ilaçlar bu kanalları etkileyerek DMP'nin daha pozitif veya negatif potansiyellere kaymasına sebep olabilir. Crump ve ark. yaptığı çalışmada 8 farklı antipsikotik ilacın I_{K1} üzerine etkilerini incelemişlerdir ve tedavi edici dozlarda herhangi bir fark gözlememişlerdir ancak yüksek dozlarda tiyoridazin, haloperidol ve klozapin uygulamasının bu akımları baskıladığını göstermişlerdir (Crumb ve ark., 2006). Elde ettiğimiz kayıtlarda DMP'de düşük dozlarda hem Ket hem de Nket uygulaması sonrası bir değişim gözlenmedi.

Repolarizasyon süreci tamamlanmadan önce faz 2 veya faz 3'de görev alan akımlarda meydana gelen değişimler sonrası kardiyak AP'de erken ard depolarizasyon (EAD) olarak adlandırılan anormal depolarizasyon dalgaları gözlenebilir. Hücre dışına çıkan akımların azalması veya hücre içine giren akımların artması EAD gelişimini kolaylaştırır (Glassman ve Bigger, 2001; Malik ve Camm, 2001). Bu depolarizasyon dalgaları ventriküler taşikardinin başlatıcı mekanizması olarak düşünülmektedir. EAD, tipik antipsikotiklerin yanı sıra yeni nesil antipsikotiklerde de görülmektedir. Gluais ve ark. yaptıkları çalışmada tavşan ventrikül hücrelerinde atipik antipsikotik olan risperidonun (3 μM) AP süresini uzatarak EAD'ye sebep olduğunu göstermişlerdir (Gluais ve ark., 2002). Risperidon ve Ket uygulamasının proaritmik etkilerinin incelendiği başka bir çalışmada 5 ve 10 μM risperidon uygulamasının QT aralığını uzatarak spontan EAD ve TdP oluşumuna neden olduğu fakat aynı şekilde 5 ve 10 μM Ket uygulamasının ise AP süresi ve QT aralığını uzatmasına karşın EAD'yi tetiklemediği gösterilmiştir (Frommeyer ve ark., 2016). Literatürde bulunan mevcut bilgilerle tutarlı olarak çalışmamızda AP kayıtlarında bir uzama gözlenmesine rağmen herhangi bir EAD formuna rastlanmamıştır.

Kalpte elektriksel uyarımın düzgün bir şekilde yayılması kardiyak AP'nin oluşumuna bağlıdır. AP'de meydana gelen uzamanın birden fazla nedeni olabilir. Hücre içine doğru I_{Na} (özellikle geç Na akımları, $I_{Na,Late}$) ve I_{CaL} aktivitesinin artması veya dışarı doğru I_K azalması veya bu akımların farklı kombinasyonları AP süresinin uzamasına neden olabilir. Aynı zamanda değiştokuşçuların aktivitesinin değişmesi de AP süresini etkilemektedir (Mačianskienė ve ark., 2018). Çalışmamızda elde edilen AP ve kasılma parametrelerinde gözlemlenen değişimlerin altında yatan mekanizmaların daha net bir şekilde ortaya koyulabilmesi için kardiyomiyositlerde I_{CaL}, I_{to} ve I_{ss} detaylı olarak incelendi.

Ca^{+2} kanalları hem fizyolojik hem patolojik süreçlere dahil olan önemli katyon kanallarıdır. Bu kanallar membran potansiyelinde meydana gelen değişimler sonrasında Ca^{+2} iyonunun hücre içerisine girmesine izin vererek sinyal yolaklarının regülasyonunda ve en önemlisi kalp kası liflerinin kasılma ve gevşeme döngülerinin koordineli bir şekilde sürdürülmesinde kilit rol oynamaktadır (Bodi ve ark., 2005; Feng ve ark., 2018). Bu nedenle çalışmamızda Ket ve Nket'in izole kardiyomiyositlerde I_{CaL} üzerine etkisinin olup olmadığı incelendi. Farklı konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulamalarının I_{CaL} üzerinde inhibe edici etkisi olduğu ve bu inhibitör etkinin Nket uygulaması sonrasında belirgin olarak arttığı görüldü. Yaptığımız deneyler sonucunda hızlı ve yavaş zaman sabitleri üzerinde Ket ve Nket uygulamalarının bir etkisinin olmadığı görüldü. Ayrıca taşınan yük miktarlarında elde ettiğimiz verilerle tutarlı olarak konsantrasyona bağlı azalma gözlendi. Ca^{+2} kanallarında hücre içerisine giren Ca^{+2} miktarında meydana gelen azalma Ket ve Nket uygulama sonrası gözlemlenen kasılmadaki azalma ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca Ca^{+2} ile ilgili sinyal yolaklarının aktivasyonunu da etkiliyor olabilir.

Ket uygulamasının Ca^{+2} kanalları üzerine doğrudan etkisinin olup olmadığını incelemek için zamana bağlı reaktivasyon ve potansiyele bağlı inaktivasyon parametreleri incelendi. Hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlarda Ket ve Nket uygulamaları kanalın inaktivasyon kinetiklerini etkilemedi. Fakat özellikle yüksek konsantrasyonda Ket uygulaması kanalın inaktivasyondan kurtulma yani reaktivasyon sürelerini yavaşlattı. Literatür incelendiğinde Choi ve ark. yaptıkları çalışmada insan embriyonik böbrek 293 hücrelerinde atipik antipsikotik olan klozapinin $Ca_V3.1$ kanal akımlarını anlamlı düzeyde azalttığını ve özellikle reaktivasyon kinetiklerini yüksek dozda klozapin uygulaması

sonrası çalışmamızla benzer şekilde yavaşlattığını gösterdi (Choi ve Rhim, 2010). Elde edilen veriler doğrultusunda Ket ve Nket uygulamasının sadece Ca^{+2} akımlarında bir azalmaya neden olmadığı aynı zamanda özellikle yüksek konsantrasyonlarda kanal davranışını etkilediği gösterilmiştir.

Plato fazında I_K ve I_{CaL} arasındaki denge AP süresinin belirlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Özellikle yüksek dozlarda AP'de gözlemlenen uzama bu akımlarda meydana gelen değişimlerle doğrudan ilgilidir. Sıçan kardiyomiyositlerinde Ca^{+2} homeostazının değişmesi temel olarak kasılma ve gevşeme süreci ve Ca^{+2} sinyal yolakları üzerinde etkili olacaktır (Joukar, 2021). Sıçan kardiyomiyositlerinden elde edilen kayıtlar doğrultusunda I_{CaL}'de meydana gelen azalmaya rağmen AP süresinde uzama gözlenmesi K^+ akımlarının AP süresinin belirlenmesinde kilit rol oynadığını göstermektedir.

AP şeklinde ve süresinde meydana gelen değişimler kardiyak kasılmayı önemli ölçüde etkileyecektir. Özellikle K^+ kanalları aracılığıyla hücre dışına çıkan akımların azalması QT aralığının uzamasına neden olacaktır (Barry ve ark., 1998). Repolarizasyonda görevli K^+ akımları kendi içlerinde iki ana bileşene ayrılmışlardır (Deal ve ark., 1996). Bunlardan birincisi hızlı aktivasyon ve inaktivasyon özelliğine sahip olan I_{to}, AP'nin erken repolarizasyon fazında görev almaktadır. Diğer bileşen ise hızlı aktive olan ve inaktive olmayan I_{ss} olarak adlandırılır ve muhtemelen AP'nin daha sonraki aşamalarında görev alır (Jew ve ark., 2001). Yapılan birçok çalışma I_{to} genliğinin fizyolojik koşullarda (Wang L. ve Duff, 1997) ya da adrenerjik aktivasyon (Elasoru ve ark., 2021), kardiyak hipertrofi (Zhi-bin ve ark., 2014), kalp yetmezliği (Bito ve ark., 2010), diyabet (Gallego ve ark., 2009) gibi patolojik durumlarda önemli ölçüde değiştiğini göstermiştir. Antipsikotik ilaçların bu akımlar üzerine etkileri olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir. Crumb ve ark., insan kardiyak hücrelerinde 14 adet antipsikotik ilaç kullanılarak, QT aralığında meydana gelen uzamada I_{to} etkisini incelediler. Özellikle yüksek dozda haloperidol, risperidon ve tiyoridazinin I_{to}'yu baskıladığını klozapin ve olanzapinin ise nispeten daha düşük etkiye sahip olduğunu gösterdiler. Fakat tedavi edici dozlarda I_{to}'da herhangi bir değişim olmadığını bildirdiler. Bu ilaçlar kullanıldıktan sonra gözlemlenen aritmilerin I_{to} ile ilişkili olmadığı yaptıkları çalışmada gösterildi. Fakat aynı çalışmada hERG akımları QT aralığının uzamasında ve tekrarlayan aritmilerin oluşmasında en muhtemel mekanizma

olarak öngörülmüştür (Crumb ve ark., 2006). Akımlarda gözlemlenen bu blokaj AP süresinin ve QT aralığının uzamasına neden olmaktadır. Yaptığımız çalışmada Ket ve Nket uygulamasının özellikle pozitif potansiyellerde I_{to}'ı anlamlı olarak baskıladığı gözlendi. Bu inhibitör etki Crump ve ark.'nın çalışmasıyla tutarlı olarak özellikle yüksek konsantrasyonlarda belirgin bir şekilde artmıştır (Crumb ve ark., 2006). I_{to} baskılanması AP süresinin uzamasında belirgin etki oluşturmaktadır. İnaktive olmayan kararlı durum akımlarında Ket ve Nket etkisi daha belirgin olarak görüldü. Yüksek konsantrasyonlarda daha belirgin etki gözlenmesinin yanı sıra fizyolojik konsantrasyona yakın olan düşük konsantrasyonda da bütün potansiyellerde anlamlı olarak I_{ss} baskılandı. I_{to}'da olduğu gibi bu akımların baskılanması AP süresinin uzamasına katkı sağlamaktadır (Jew ve ark., 2001).

K^+ kanal ekspresyonları türe bağlı olarak değişmektedir. Ginepig ventrikül miyositlerinde I_{to} kanal ekspresyonu nispeten daha azdır (Giles ve Imaizumi, 1988) ve APD, hücre içerisine doğru giren I_{Na} ve I_{CaL} ile dışarı doğru çıkan I_K ve I_{K1} arasındaki etkileşimle kontrol edilir. Diğer yandan sıçan, tavşan ve insan atriyum ve ventrikül hücrelerinde I_{to}, AP repolarizasyonundan sorumlu en önemli dışarı doğru K^+ akımı olarak bilinmektedir (Pacher ve Kecskemeti, 2004), ve bu nedenle I_{to} baskılanması APD süresinde kilit rol oynamaktadır. I_{CaL} baskılanması sonrası APD'nin kısalması beklenirken tersine uzaması iki farklı şekilde açıklanabilir. 1) I_{to} akımları I_{CaL} akımlarından daha baskındır ve I_{to} inhibisyonu I_{CaL}'deki inhibisyonu bertaraf ederek uzamaya neden olabilir. 2) Hücre içine giren toplam Ca^{+2} miktarının azalması Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanallarının etkinliğini azaltarak dışarı çıkan K^+ miktarını düşürür ve sonuçta APD uzamasına neden olabilir (Hsueh ve ark., 2013; Skibsbye ve ark., 2014).

LTCC'den hücre içerisine giren Ca^{+2} hücre kasılmasının yanı sıra ikincil mesajcı olarak sinyal iletim yolaklarında fizyolojik ve patolojik gen ekspresyonlarının regülasyonunda görev alır (Benitah ve ark., 2003). Hücre içine giren Ca^{+2} birçok enzimi aktif hale getirmek için kofaktör görevi üstlenir. PLC hücresel Ca^{+2} sinyal yolağında görevli enzimlerden biridir (Singer ve ark., 1997; Rhee, 2002). Hücre yüzeyinde bulunan G protein kenetli reseptörler veya reseptör tirozin kinazlar tarafından aktive olan PLC, çok sayıda hücre içi veya dış sinyal moleküllerinin regülasyonunda görev alır (Yang ve ark., 2013). PLC,

plazma membranında fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (PIP_2) seviyesini düzenler ve ikincil haberci inositol trifosfat (IP_3) ve diaçil gliserol (DAG) üretir (Klose ve ark., 2008). Bu ikincil haberciler hücre içi depolarda bulunan Ca^{+2} salınımını düzenleyerek hücresel olaylara katılırlar. 5HT2A reseptörü nöronlarda PLC, PLA_2 ve PLC'nin alt basamağı olan ERK yolağını aktive eder (Bockaert ve ark., 2010). Birçok dokuda 5HT2A etkisini PLC üzerinden göstermektedir (Briddon ve ark., 1998; Grotewiel ve Sanders-Bush, 1999). Düz kas hücrelerinde yapılan çalışmada PLC aktivasyonunun LTCC (WATTS, 1998) ve PKC aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Takuwa ve ark., 1989). PLC inhibitörü U73122, iyon kanallarının aktivitelerini araştırmak ve PLC bağımlı süreçlerin aydınlatılmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Klose ve ark., 2008). U73122, PIP_2'nin PLC aracılı hidrolizini engelleyerek IP_3 ve DAG üretiminde, Ca^{+2} seviyelerinde ve fosfotidilinositol miktarında düşüşlere neden olur. Çalışmamızda I_{CaL}'de meydana gelen baskılanmanın PLC yolağı üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediği test edildi. PLC inhibitörü uygulamasında I_{CaL}'nin anlamlı seviyeye ulaşmasa da bir miktar arttırdığı, ancak U73122 varlığında hücreye Nket verildiğinde ise anlamlı olarak azaldığı gözlendi. Önce Nket uygulanıp ardından U73122 uygulandığında da benzer karakteristikler gözlendi.

PLC aktivasyonu IP_3 üretiminde artışa neden olur ve ardından SR üzerinde bulunan IP_3R'lerine bağlanarak sitozolik Ca^{+2} artışına neden olur (Bezprozvanny ve Ehrlich, 1995; Joseph, 1996). PLC inhibitörü U73122 IP_3R'lerinin aktivasyonunu engelleyerek sitozolik Ca^{+2} artışını engeller. Hücre Ca^{+2} homeostazını dengede tutmak ister (Satin ve Schroder, 2009). Sitozolik Ca^{+2} miktarında değişim gözlenirse I_{CaL} akımlarında ve kanal ekspresyonlarında da değişim gözlenir (Pott ve ark., 2005). Sitozolik Ca^{+2}'nın artması, kanalın Ca^{+2} bağımlı inaktivasyonuna neden olur ve Ca^{+2} bağımlı inaktivasyon sitozolik Ca^{+2} miktarının belirlenmesinde büyük öneme sahiptir (Bodi ve ark., 2005). Sitozolik Ca^{+2}'nın azalması negatif geribildirim mekanizmalarıyla I_{CaL}'de bir miktar artışa neden olabilir. Çalışmamızda PLC inhibitörü sonrası I_{CaL}'de gözlemlenen küçük artış IP_3 seviyesinin azalmasına sekonder olarak gelişmektedir. Elde edilen sonuçlar Nket'in I_{CaL} üzerine olan etkisinin PLC yolağından bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır.

Antipsikotik ilaçlar beyinde dopamin, serotonin, adrenalin, asetilkolin, histamin reseptörlerine bağlanarak birçok fonksiyonu düzenler. Bağlandığı reseptörler klinik veya yan etki profilini oluşturur (Correll, 2010). Antipsikotiklerin ana hedefi D2 reseptör blokajıdır (Kapur ve Mamo, 2003). Yeni geliştirilen antipsikotiklerin D2 reseptörünün yanında 5HT2A reseptörüne afinitelerinin artması antipsikotik etki için kritik rol oynamaktadır. 5HT2A reseptörleri özellikle frontal kortekste yüksek oranda eksprese edilir (Nichols ve ark., 2008). 5HT2A reseptörlerinin beyindeki rolünü belirlemek için kapsamlı araştırmalar yapılmıştır; bu reseptörler bilişsel hafıza ve çalışma belleği (Williams G. V. ve ark., 2002) gibi süreçlere katılmaktadır ve şizofreninin altında yatan mekanizmalarla ilişkilendirilmiştir (Aghajanian ve Marek, 2000). Ayrıca bu reseptörlerin ekspresyonlarında meydana gelen değişimler çeşitli psikolojik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Nichols, 2009). 5HT2A reseptörleri, merkezi sinir sistemi dışında kardiyovasküler fonksiyonla ilişkili birçok farklı dokuda eksprese edilir (Villeneuve ve ark., 2009). Vazokonstriksiyon ve hücresel proliferasyonun bazı yönlerine aracılık ettiğine inanılan vasküler düz kas ve endotelyal hücrelerde ve kardiyomiyositlerde eksprese edilir (Nagatomo ve ark., 2004; Brattelid ve ark., 2007). 5HT2A reseptör aktivitesi sadece periferdeki kardiyovasküler fonksiyonu modüle etmekle kalmaz, aynı zamanda beynin nükleus traktus solitariustaki 5HT2A reseptörlerinin aktivasyonu ile hem kan basıncını hem de kalp hızını önemli ölçüde etkiler (Comet ve ark., 2007). Daha önceki çalışmalarda (1 ve 10 μM) 5HT2A reseptör antagonistinin (M100907) prefrontal korteksde lokal K^+ kaynaklı dopamin salınımını engellediği gösterilmiştir (Pehek ve ark., 2001). Ket'in etkisini 5HT2A reseptörü üzerinden gösterdiği bilindiğinden, çalışmamızda I_{CaL}'de meydana gelen değişimde 5HT2A reseptörünün etkisinin olup olmadığı test edildi. Bunun için seçici 5HT2A reseptör antagonisti M100907 (1 μM) hücreler üzerine akut olarak uygulandı. M100907 uygulaması I_{CaL}'yi bir miktar azaltırken, M100907 varlığında Nket uygulaması I_{CaL}'yi daha da azalttı. Farklı olarak önce Nket uygulanıp ardından M100907 uygulandığında aynı karakteristikte I_{CaL}'in engellendiği gözlendi. Elde ettiğimiz bu sonuçlar Nket'in I_{CaL} üzerine olan etkisinin 5HT2A reseptörleri üzerinden gerçekleşmediğini göstermektedir.

Sonuç olarak, Ket ve Nket uygulamalarının kalpte I_{CaL}, I_{to} ve I_{ss} etkileyerek APD'yi uzattığı ve bunun sonucu olarak kardiyak kasılmayı etkilediği gösterildi. Bu etki Ket ile

tedavi edilen hastalarda gözlenen QT aralığında meydana gelen uzamayı açıklamaktadır. Ayrıca Ket ve Nket'in Ca^{+2} akımları üzerindeki inhibitör etkisini 5HT2A reseptörü ve PLC yolağından bağımsız olarak gerçekleştirdi. Ket ve Nket'in kardiyak yan etki profilinin detaylı olarak anlaşılabilmesi ve akımlar üzerindeki inhibitör etkilerin hangi hücresel mekanizmalar aracılığı ile gerçekleştiğinin anlaşılabilmesi için kapsamlı in vivo ve in vitro çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda kalbin elektriksel ve mekanik işlevleri üzerine akut antipsikotik ajan olan Ket ve aktif metaboliti Nket uygulamasının etkileri ve bu etkilerin hangi sinyal yolağı üzerinden gerçekleştiği incelendi.

Hem Ket hem de Nket'in akut uygulamasından sonra fraksiyonel kısalma konsantrasyona bağlı olarak azaldı. Her iki maddenin kasılma parametreleri üzerine olan etkileri, maddenin ortamdan temizlenmesiyle ortadan kalktı ve kasılma değerleri neredeyse başlangıçtaki durumuna geri döndü.

Uyarılabilir hücrelerin temelini oluşturan AP'nin analizi sonucunda hem Ket hem de Nket akut uygulamasıyla I_{CaL}, I_{to} ve I_{ss}'i değişmesi sonucunda APD'nin uzadığı, özellikle yüksek konsantrasyonlarda tepe noktasının çarpıcı şekilde azaldığı ve bu azalmanın frekans bağımlı olduğu gösterildi.

Kasılmada önemli işlevi olan I_{CaL} hem Ket hem de Nket uygulamasından sonra konsantrasyona bağlı olarak azaldı ve bu azalmayla orantılı olarak L-tipi Ca^{+2} kanallarından hücre içine giren Ca^{+2} miktarı da azaldı. Özellikle yüksek konsantrasyonda reaktivasyon kinetiklerinin yavaşladığı tespit edildi.

AP'nin repolarizasyon fazında görev alan K^+ akımlarından I_{to} ve I_{ss}, önemli düzeyde baskılandı ve inaktivasyon kinetiklerinin özellikle yüksek dozda daha negatif değerlere kaydığı gösterildi.

I_{CaL}'de meydana gelen inhibe edici etkinin 5HT2A reseptörü ve PLC-IP_3 yolağı üzerinden gerçekleşmediği gösterildi.

Sonuç olarak, bu çalışma ilk kez Ket'in I_{CaL}, I_{to} ve I_{ss} akımlarını baskılayarak sıçan kardiyomiyositlerinde ventriküler repolarizasyonu güçlü bir şekilde uzattığını göstermektedir. Bu etki Ket ile tedavi edilen hastalarda gözlenen QT uzamasını açıklamaktadır. Antipsikotik ilaç kullanımı sonrasında kardiyovasküler sistemde meydana gelen patolojik olayları daha kapsamlı aydınlatabilmek için bu çalışmanın verilerini destekleyecek in vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abdelmawla N, Mitchell AJ. Sudden cardiac death and antipsychotics. Part 1: Risk factors and mechanisms. Advances in Psychiatric Treatment. 2006; 12: 35-44.

Achalia R, Andrade C. Ventricular premature contractions associated with iloperidone. Indian Journal of Psychiatry. 2013; 55: 195-196.

Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin model of schizophrenia: Emerging Role of Glutamate Mechanisms. Brain research reviews. 2000; 31: 302-312.

Amin AS, Tan HL, Wilde AA. Cardiac ion channels in health and disease. Heart Rhythm. 2010; 7: 117-126.

AstraZeneca Pharmaceuticals L. (2013). Seroquel Xr (quetiapine fumarate) extended release tablets prescribing information. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/020639s061lbl.pdf

Atmaca M, Kuloglu M, Tezcan E, Gecici O, Ustundag B. Weight gain, serum leptin and triglyceride levels in patients with schizophrenia on antipsychotic treatment with quetiapine, olanzapine and haloperidol. Schizophrenia Research. 2003; 60: 99-100.

Barbagallo F, Xu B, Reddy GR, West T, Wang Q, Fu Q , ve ark. Genetically encoded biosensors reveal PKA hyperphosphorylation on the myofilaments in rabbit heart failure. Circulation Research. 2016; 119: 931-943.

Barry DM, Xu H, Schuessler RB, Nerbonne JM. Functional knockout of the transient outward current, long-QT syndrome, and cardiac remodeling in mice expressing a dominant-negative Kv4 α subunit. Circulation Research. 1998; 83: 560-567.

Bartos DC, Grandi E, Ripplinger CM. Ion channels in the heart. Comprehensive Physiology. 2015; 5: 1423.

Beach SR, Celano CM, Noseworthy PA, Januzzi JL, Huffman JC. Qtc prolongation, torsades de pointes, and psychotropic medications. Psychosomatics. 2013; 54: 1-13.

Benitah J-P, Gomez A-M, Virsolvy A, Richard S. New perspectives on the key role of calcium in the progression of heart disease. Journal of Muscle Research & Cell Motility. 2003; 24: 277-285.

Bergman H, Walker D-M, Nikolakopoulou A, Soares-Weiser K, Adams CE. Systematic review of interventions for treating or preventing antipsychotic-induced tardive dyskinesia. Health Technology Assessment. 2017; 21: 1-218.

Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. Nature. 2002; 415: 198-205.

Bezprozvanny I, Ehrlich B. The inositol 1, 4, 5-trisphosphate (insp3) receptor. The Journal of Membrane Biology. 1995; 145: 205-216.

Bito V, De Waard MC, Biesmans L, Lenaerts I, Ozdemir S, van Deel E , ve ark. Early exercise training after myocardial infarction prevents contractile but not electrical remodelling or hypertrophy. Cardiovascular Research. 2010; 86: 72-81.

Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: An update. Trends in Neurosciences. 2007; 30: 194-202.

Bockaert J, Claeysen S, Dumuis A, Marin P. Classification and signaling characteristics of 5-HT receptors. In Handbook of behavioral neuroscience. Elsevier. 2010; 21: 103-121.

Bodi I, Mikala G, Koch SE, Akhter SA, Schwartz A. The l-type calcium channel in the heart: The beat goes on. The Journal of Clinical Investigation. 2005; 115: 3306-3317.

Brattelid T, Qvigstad E, Birkeland JAK, Swift F, Bekkevold SV, Krobert KA , ve ark. Serotonin responsiveness through 5-HT2A and 5-HT4 receptors is differentially regulated in hypertrophic and failing rat cardiac ventricle. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2007; 43: 767-779.

Briddon S, Leslie R, Elliott J. Comparative desensitization of the human 5-HT2A and 5-HT2C receptors expressed in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. British Journal of Pharmacology. 1998; 125: 727-734.

Buchanan RW, Kreyenbuhl J, Kelly DL, Noel JM, Boggs DL, Fischer BA , ve ark. The 2009 schizophrenia PORT psychopharmacological treatment recommendations and summary statements. Schizophrenia Bulletin. 2010; 36: 71-93.

Bui K, Earley W, Nyberg S. Pharmacokinetic profile of the extended-release formulation of quetiapine fumarate (quetiapine Xr): Clinical implications. Current Medical Research and Opinion. 2013; 29: 813-825.

Butler L, Cros C, Oldman KL, Harmer AR, Pointon A, Pollard CE , ve ark. Enhanced characterization of contractility in cardiomyocytes during early drug safety assessment. Toxicological Sciences. 2015; 145: 396-406.

Bymaster FP, Calligaro DO, Falcone JF, Marsh RD, Moore NA, Tye NC , ve ark. Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. Neuropsychopharmacology. 1996; 14: 87-96.

Calderone V, Testai L, Martinotti E, Del Tacca M, Breschi MC. Drug-induced block of cardiac herg potassium channels and development of torsade de pointes arrhythmias: The case of antipsychotics. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2005; 57: 151-161.

Caldwell CB, Gottesman II. Schizophrenics kill themselves too: A review of risk factors for suicide. Schizophrenia Bulletin. 1990; 16: 571-589.

Carafoli E, Santella L, Branca D, Brini M. Generation, control, and processing of cellular calcium signals. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 2001; 36: 107-260.

Casey D. 'Seroque'(quetiapine): Preclinical and clinical findings of a new atypical antipsychotic. Expert Opinion on Investigational Drugs. 1996; 5: 939-957.

Chakraborti S, Das S, Kar P, Ghosh B, Samanta K, Kolley S , ve ark. Calcium signaling phenomena in heart diseases: A perspective. Molecular and Cellular Biochemistry. 2007; 298: 1-40.

Charlson FJ, Ferrari AJ, Santomauro DF, Diminic S, Stockings E, Scott JG , ve ark. Global epidemiology and burden of schizophrenia: Findings from the global burden of disease study 2016. Schizophrenia Bulletin. 2018; 44: 1195-1203.

Choi K-H, Rhim H. Inhibition of recombinant Cav3. 1 (α1g) T-type calcium channels by the antipsychotic drug clozapine. European Journal of Pharmacology. 2010; 626: 123-130.

Citrome L, Jaffe A, Levine J, Lindenmayer J-P. Dosing of quetiapine in schizophrenia: How clinical practice differs from registration studies. The Journal of Clinical Psychiatry. 2005; 66: 4726.

Comet MA, Bernard J, Hamon M, Laguzzi R, Sévoz-Couche C. Activation of nucleus tractus solitarius 5-HT2A but not other 5-HT2 receptor subtypes inhibits the sympathetic activity in rats. European Journal of Neuroscience. 2007; 26: 345-354.

Correll C. From receptor pharmacology to improved outcomes: Individualising the selection, dosing, and switching of antipsychotics. European Psychiatry. 2010; 25: 12-21.

Cross A, Widzowski D, Maciag C, Zacco A, Hudzik T, Liu J , ve ark. Quetiapine and its metabolite norquetiapine: Translation from in vitro pharmacology to in vivo efficacy in rodent models. British Journal of Pharmacology. 2016; 173: 155-166.

Crumb WJ, Ekins S, Sarazan RD, Wikel JH, Wrighton SA, Carlson C , ve ark. Effects of antipsychotic drugs on Ito, INa, Isus, IK1, and HERG: QT prolongation, structure activity relationship, and network analysis. Pharmaceutical Research. 2006; 23: 1133-1143.

De Haan L. Subjective experience and striatal dopamine D2 receptor occupancy in patients with schizophrenia stabilized by olanzapine or risperidone. American Journal of Psychiatry. 2000; 157: 1019-1020.

De Haan L, Lavalaye J, Booij J, Linszen D. Comfort, self-confidence, safety, and dopamine D2 receptor occupancy by antipsychotics. American Journal of Psychiatry. 2005; 162: 1544-1545.

Deal KK, England SK, Tamkun MM. Molecular physiology of cardiac potassium channels. Physiological Reviews. 1996; 76: 49-67.

Deguchi A, Nakamura M, Hayashi T, Sano A. Quetiapine-induced frequent premature ventricular contraction. General Hospital Psychiatry. 2012; 34: 211-213.

Delbridge LM, Roos KP. Optical methods to evaluate the contractile function of unloaded isolated cardiac myocytes. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 1997; 29: 11-25.

Dev V, Raniwalla J. Quetiapine. Drug Safety. 2000; 23: 295-307.

Devane CL, Nemeroff CB. Clinical pharmacokinetics of quetiapine. Clinical Pharmacokinetics. 2001; 40: 509-522.

Dietle A. QTc prolongation with antidepressants and antipsychotics. US Pharmacıst. 2015; 40: 34-38.

Drici M-D, Wang WX, Liu X-K, Woosley RL, Flockhart DA. Prolongation of QT interval in isolated feline hearts by antipsychotic drugs. Journal of Clinical Psychopharmacology. 1998; 18: 477-481.

El-Saifi N, Moyle W, Jones C, Tuffaha H. Quetiapine safety in older adults: A systematic literature review. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics. 2016; 41: 7-18.

Elasoru SE, Rhana P, de Oliveira Barreto T, de Souza DLN, Menezes-Filho JER, Souza DS , ve ark. Andrographolide protects against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats through inhibition of L-type Ca^{2+} and increase of cardiac transient outward K^{+} currents. European Journal of Pharmacology. 2021; 906: 174194.

Enyeart J, Dirksen R, Sharma V, Williford D, Sheu S. Antipsychotic pimozide is a potent Ca^{2+} channel blocker in heart. Molecular Pharmacology. 1990; 37: 752-757.

Bauer M, Pretorius HW, Constant EL, Earley WR, Szamosi J,Brecher M. Extended-release quetiapine as adjunct to an antidepressant in patients with major depressive disorder: Results of a randomized, placebo-controlled, double-blind study. The Journal of Clinical Psychiatry. 2009; 70(4): 540-549.

Erkan O, Eren Yamasan B, Mercan T, Özdemir S. Rosuvastatinin sol ventrikül miyosit kalsiyum ve potasyum İyon kanalları üzerine akut etkisi. Firat Universitesi Saglik Bilimleri Tip Dergisi. 2020; 34 (2): 161-166.

Evoy KE, Teng C, Encarnacion VG, Frescas B, Hakim J, Saklad S , ve ark. Comparison of quetiapine abuse and misuse reports to the FDA adverse event reporting system with other second-generation antipsychotics. Substance Abuse: Research and Treatment. 2019; 13: 1178221819844205.

Fabiato A, Fabiato F. Calcium and cardiac excitation-contraction coupling. Annual Review of Physiology. 1979; 41: 473-484.

Farah A. Atypicality of atypical antipsychotics. Primary care companion to the Journal of Clinical Psychiatry. 2005; 7: 268.

Feng T, Kalyaanamoorthy S, Barakat K. L-type calcium channels: Structure and functions. Ion Channels in Health and Sickness. 2018; 77305.

Frommeyer G, von der Ahe H, Brücher B, Dechering DG, Lange PS, Reinke F , ve ark. Severe proarrhythmic potential of risperidone compared to quetiapine in an experimental whole-heart model of proarrhythmia. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2016; 389: 1073-1080.

Fura A. Role of pharmacologically active metabolites in drug discovery and development. Drug Discovery Today. 2006; 11: 133-142.

Gallego M, Alday A, Urrutia J, Casis O. Transient outward potassium channel regulation in healthy and diabetic hearts. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2009; 87: 77-83.

Gefvert O, Lundberg T, Wieselgren I-M, Bergström M, Långström B, Wiesel F-A , ve ark. D2 and 5HT2A receptor occupancy of different doses of quetiapine in schizophrenia: A pet study. European Neuropsychopharmacology. 2001; 11: 105-110.

Giles W, Imaizumi Y. Comparison of potassium currents in rabbit atrial and ventricular cells. The Journal of Physiology. 1988; 405: 123-145.

Glassman AH, Bigger Jr JT. Antipsychotic drugs: Prolonged QTc interval, torsade de pointes, and sudden death. American Journal of Psychiatry. 2001; 158: 1774-1782.

Gluais P, Bastide M, Caron J, Adamantidis M. Risperidone prolongs cardiac action potential through reduction of K^+ currents in rabbit myocytes. European Journal of Pharmacology. 2002; 444: 123-132.

Goodnick PJ, Parra F, Jerry J. Psychotropic drugs and the ECG: Focus on the qtc interval. Expert Opinion on Pharmacotherapy. 2002; 3: 479-498.

Grotewiel MS, Sanders-Bush E. Differences in agonist-independent activity of 5-HT2A and 5-HT2C receptors revealed by heterologous expression. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 1999; 359: 21-27.

Hall JE, Hall ME. Guyton and hall textbook of medical physiology e-book. Elsevier Health Sciences; 2020.

Harmon TJ, Benitez JG, Krenzelok EP, Cortes-Belen E. Loss of consciousness from acute quetiapine overdosage. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology. 1998; 36: 599-602.

Harrigan EP, Miceli JJ, Anziano R, Watsky E, Reeves KR, Cutler NR , ve ark. A randomized evaluation of the effects of six antipsychotic agents on QTc, in the absence and presence of metabolic inhibition. Journal of Clinical Psychopharmacology. 2004; 24: 62-69.

Hasnain M, Vieweg WVR, Howland RH, Kogut C, Breden Crouse EL, Koneru JN , ve ark. Quetiapine, QTc interval prolongation, and torsade de pointes: A review of case reports. Therapeutic Advances in Psychopharmacology. 2014; 4: 130-138.

Hatip-Al-Khatib I, Bolukbaşi-Hatip F. Modulation of the negative inotropic effect of haloperidol by drugs with positive inotropic effects in isolated rabbit heart. Pharmacology. 2002; 66: 19-25.

Hawkins SB, Bucklin M, Muzyk AJ. Quetiapine for the treatment of delirium. Journal of Hospital Medicine. 2013; 8: 215-220.

Hirschfeld RM, Weisler RH, Raines SR, Macfadden W, Group BS. Quetiapine in the treatment of anxiety in patients with bipolar i or ii depression: A secondary analysis from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. The Journal of Cinical Psychiatry. 2006; 67: 16561.

Hjorthoj C, Stürup AE, McGrath JJ, Nordentoft M. Years of potential life lost and life expectancy in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. The Lancet Psychiatry. 2017; 4: 295-301.

Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P , ve ark. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. CNS Drugs. 2006; 20: 389-409.

Horvath B, Banyasz T, Jian Z, Hegyi B, Kistamas K, Nanasi PP , ve ark. Dynamics of the late Na^+ current during cardiac action potential and its contribution to afterdepolarizations. Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2013; 64: 59-68.

Hough DW, Natarajan J, Vandebosch A, Rossenu S, Kramer M, Eerdekens M. Evaluation of the effect of paliperidone extended release and quetiapine on corrected QT intervals: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. International Clinical Psychopharmacology. 2011; 26: 25-34.

Hsueh C-H, Chang P-C, Hsieh Y-C, Reher T, Chen P-S, Lin S-F. Proarrhythmic effect of blocking the small conductance calcium activated potassium channel in isolated canine left atrium. Heart Rhythm. 2013; 10: 891-898.

Huang CL-H. Murine electrophysiological models of cardiac arrhythmogenesis. Physiological Reviews. 2017; 97: 283-409.

Issa Z, Miller JM, Zipes DP. Clinical arrhythmology and electrophysiology: A companion to braunwald's heart disease e-book: Expert consult: Online and print. Elsevier Health Sciences; 2012.

Jablensky A. The epidemiological horizon. Schizophrenia. 2003: 203-231.

Janvier N, Boyett M. The role of Na-Ca exchange current in the cardiac action potential. Cardiovascular Research. 1996; 32: 69-84.

Jensen NH, Rodriguiz RM, Caron MG, Wetsel WC, Rothman RB, Roth BL. N-desalkylquetiapine, a potent norepinephrine reuptake inhibitor and partial 5-HT1A agonist, as a putative mediator of quetiapine's antidepressant activity. Neuropsychopharmacology. 2008; 33: 2303-2312.

Jew KN, Olsson MC, Mokelke EA, Palmer BM, Moore RL. Endurance training alters outward K^+ current characteristics in rat cardiocytes. Journal of Applied Physiology. 2001; 90: 1327-1333.

Joseph SK. The inositol triphosphate receptor family. Cellular Signalling. 1996; 8: 1-7.

Joukar S. A comparative review on heart ion channels, action potentials and electrocardiogram in rodents and human: Extrapolation of experimental insights to clinic. Laboratory Animal Research. 2021; 37: 1-15.

Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2003; 27: 1081-1090.

Kapur S, Remington G. Dopamine D2 receptors and their role in atypical antipsychotic action: Still necessary and may even be sufficient. Biological Psychiatry. 2001; 50: 873-883.

Kapur S, Seeman P. Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. Journal of Psychiatry and Neuroscience. 2000a; 25: 161.

Kapur S, Zipursky R, Jones C, Shammi C, Remington G, Seeman P. A positron emission tomography study of quetiapine in schizophrenia: A preliminary finding of an antipsychotic effect with only transiently high dopamine D2 receptor occupancy. Archives of General Psychiatry. 2000b; 57: 553-559.

Kim D-H, Park K-S, Park S-H, Hahn SJ, Choi J-S. Norquetiapine blocks the human cardiac sodium channel Nav1.5 in a state-dependent manner. European Journal of Pharmacology. 2020; 885: 173532.

Klabunde R. Cardiovascular physiology concepts. Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

Klose A, Huth T, Alzheimer C. 1-[6-[[(17β)-3-methoxyestra-1, 3, 5 (10)-trien-17-yl] amino] hexyl]-1h-pyrrole-2, 5-dione (U73122) selectively inhibits Kir3 and Bk channels in a phospholipase c-independent fashion. Molecular Pharmacology. 2008; 74: 1203-1214.

Komossa K, Depping AM, Gaudchau A, Kissling W, Leucht S. Second-generation antipsychotics for major depressive disorder and dysthymia. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2010; (12):CD008121.

Kroeze WK, Hufeisen SJ, Popadak BA, Renock SM, Steinberg S, Ernsberger P , ve ark. H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. Neuropsychopharmacology. 2003; 28: 519-526.

Lee HJ, Choi J-S, Choi BH, Hahn SJ. Effects of norquetiapine, the active metabolite of quetiapine, on cloned HERG potassium channels. Neuroscience Letters. 2018; 664: 66-73.

Lee SY, Kim YJ, Kim KT, Choe H, Jo SH. Blockade of herg human K^+ channels and Ikr of guinea-pig cardiomyocytes by the antipsychotic drug clozapine. British Journal of Pharmacology. 2006; 148: 499-509.

Leucht S, Leucht C, Huhn M, Chaimani A, Mavridis D, Helfer B , ve ark. Sixty years of placebo-controlled antipsychotic drug trials in acute schizophrenia: Systematic review, bayesian meta-analysis, and meta-regression of efficacy predictors. American Journal of Psychiatry. 2017; 174: 927-942.

Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO , ve ark. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. New England Journal of Medicine. 2005; 353: 1209-1223.

Liperoti R, Gambassi G, Lapane KL, Chiang C, Pedone C, Mor V , ve ark. Conventional and atypical antipsychotics and the risk of hospitalization for ventricular arrhythmias or cardiac arrest. Archives of Internal Medicine. 2005; 165: 696-701.

Lopez-Munoz F, Alamo C. Active metabolites as antidepressant drugs: The role of norquetiapine in the mechanism of action of quetiapine in the treatment of mood disorders. Frontiers in Psychiatry. 2013; 4: 102.

Luo C, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. Circulation Research. 1991; 68: 1501-1526.

Mace LC, Palmer BM, Brown DA, Jew KN, Lynch JM, Glunt JM , ve ark. Influence of age and run training on cardiac Na^+/Ca^{2+} exchange. Journal of Applied Physiology. 2003; 95: 1994-2003.

Macianskiene R, Martisiene I, Navalinskas A, Treinys R, Andriule I, Jurevicius J. Mechanism of action potential prolongation during metabolic inhibition in the whole rabbit heart. Frontiers in Physiology. 2018: 1077.

Mackin P. Cardiac side effects of psychiatric drugs. Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental. 2008; 23: 3-14.

Malik M, Camm AJ. Evaluation of drug-induced QT interval prolongation. Drug Safety. 2001; 24: 323-351.

Mauri MC, Volonteri LS, Colasanti A, Fiorentini A, De Gaspari IF, Bareggi SR. Clinical pharmacokinetics of atypical antipsychotics. Clinical Pharmacokinetics. 2007; 46: 359-388.

McDonough PM, Glembotski C. Induction of atrial natriuretic factor and myosin light chain-2 gene expression in cultured ventricular myocytes by electrical stimulation of contraction. Journal of Biological Chemistry. 1992; 267: 11665-11668.

McIntyre RS, Brecher M, Paulsson B, Huizar K, Mullen J. Quetiapine or haloperidol as monotherapy for bipolar mania—a 12-week, double-blind, randomised, parallel-group, placebo-controlled trial. European Neuropsychopharmacology. 2005; 15: 573-585.

McKean A, Monasterio E. Off-label use of atypical antipsychotics: Cause for concern? CNS Drugs. 2012; 26: 383-390.

Melada A, Krčmar T, Vidović A. A dose-dependent relationship between quetiapine and QTc interval. International Journal of Cardiology. 2016; 100: 893-894.

Meltzer HY, Matsubara S, Lee J. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D1, D2 and serotonin2 pKi values. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1989; 251: 238-246.

Michael G, Xiao L, Qi X-Y, Dobrev D, Nattel S. Remodelling of cardiac repolarization: How homeostatic responses can lead to arrhythmogenesis. Cardiovascular Research. 2009; 81: 491-499.

Michelsen JW, Meyer JM. Cardiovascular effects of antipsychotics. Expert Review of Neurotherapeutics. 2007; 7: 829-839.

Miles CP. Conditions predisposing to suicide: A review. Journal of Nervous and Mental Disease. 1977; 164(4): 231–246.

Miyamoto S, Miyake N, Jarskog L, Fleischhacker W, Lieberman J. Pharmacological treatment of schizophrenia: A critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. Molecular Psychiatry. 2012; 17: 1206-1227.

Nagatomo T, Rashid M, Muntasir HA, Komiyama T. Functions of 5-HT2A receptor and its antagonists in the cardiovascular system. Pharmacology & Therapeutics. 2004; 104: 59-81.

Nemeroff CB, Kinkead B, Goldstein J. Quetiapine: Preclinical studies, pharmacokinetics, drug interactions, and dosing. Journal of Clinical Psychiatry. 2002; 63: 5-11.

Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. Physiological Reviews. 2005; 85: 1205-1253.

Nichols CD. Serotonin 5-HT2A receptor function as a contributing factor to both neuropsychiatric and cardiovascular diseases. Cardiovascular Psychiatry and Neurology. 2009; 2009.

Nichols DE, Nichols CD. Serotonin receptors. Chemical Reviews. 2008; 108: 1614-1641.

Nudelman E, Cohen CI. Safety in overdose of quetiapine: A case report. The Journal of Clinical Psychiatry. 1998; 59: 18832.

Nyberg S, Jucaite A, Nord M. *Pet-measured occupancy of the D2 receptor: A comparison of quetiapine fumarate immediate-and extended-release formulations in healthy subjects.* Paper presented at the Internatıonal Journal of Neuropsychopharmacology. 2010; 25: 01-79.

Nyberg S, Takano A, Grimm S, Gulyas B, McCarthy D, Lee C , ve ark. P. 1. C. 022 pet-measured D2, 5-HT2, and norepinephrine transporter (net) occupancy by quetiapine and n-desalkyl-quetiapine in non-human primates. European Neuropsychopharmacology. 2007: 254-255.

Ozturk N, Erkan O, Uslu S, Ozdemir S. Role of adenosine triphosphate and protein kinase a in the force-frequency relationship in isolated rat cardiomyocytes. Archives of Biological Sciences. 2023: 4-4.

Ozturk N, ÖZDEMİR S. The effect of swimming exercise on age-dependent electrophysiological changes in female rat myocardium. Archives of Biological Sciences. 2020; 72.

Ozturk N, Uslu S, Mercan T, Erkan O, Ozdemir S. Rosuvastatin reduces L-type Ca^{2+} current and alters contractile function in cardiac myocytes via modulation of β-adrenergic receptor signaling. Cardiovascular Toxicology. 2021a; 21: 422-431.

Ozturk N, Yaras N, Ozdemir S. Sıçan kardiyak miyositlerinde kasılmanın ve iyonik akımların sodyum metabisülfit tarafından modülasyonu. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2021b; 78: 87-100.

Pacher P, Kecskemeti V. Cardiovascular side effects of new antidepressants and antipsychotics: New drugs, old concerns? Current Pharmaceutical Design. 2004; 10: 2463-2475.

Pajonk F-GB, Schwertner AK, Seelig MA. Rapid dose titration of quetiapine for the treatment of acute schizophrenia and acute mania: A case series. Journal of Psychopharmacology. 2006; 20: 119-124.

Pehek E, McFarlane H, Maguschak K, Price B, Pluto C. M100907, a selective 5-HT2A antagonist, attenuates dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. Brain Research. 2001; 888: 51-59.

Peuskens J. The management of schizophrenia: Focus on extended-release quetiapine fumarate. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2011; 7: 549.

Pierre JM, Wirshing DA, Wirshing WC, Rivard JM, Marks R, Mendenhall J , ve ark. High-dose quetiapine in treatment refractory schizophrenia. Schizophrenia Research. 2005; 73: 373–375.

Plosker GL. Quetiapine. Pharmacoeconomics. 2012; 30: 611-631.

Potkin SG, Preskorn S, Hochfeld M, Meng X. A thorough qtc study of 3 doses of iloperidone including metabolic inhibition via cyp2d6 and/or cyp3a4 and a comparison to quetiapine and ziprasidone. Journal of Clinical Psychopharmacology. 2013; 33: 3-10.

Pott C, Philipson KD, Goldhaber JI. Excitation–contraction coupling in Na^{+}-Ca^{2+} exchanger knockout mice: Reduced transsarcolemmal Ca^{2+} flux. Circulation Research. 2005; 97: 1288-1295.

Prieto E, MicO J, Meana J, Majadas S. Neurobiological bases of quetiapine antidepresant effect in the bipolar disorder. Actas Espanolas Psiquiatria. 2010; 38: 22-32.

Ray WA, Chung CP, Murray KT, Hall K, Stein CM. Atypical antipsychotic drugs and the risk of sudden cardiac death. New England Journal of Medicine. 2009; 360: 225-235.

Ray WA, Meredith S, Thapa PB, Meador KG, Hall K, Murray KT. Antipsychotics and the risk of sudden cardiac death. Archives of General Psychiatry. 2001; 58: 1161-1167.

Remington G, Kapur S. D2 and 5-HT2 receptor effects of antipsychotics: Bridging basic and clinical findings using pet. J Clin Psychiatry. 1999; 60: 15-19.

Ren J, Wold LE. Measurement of cardiac mechanical function in isolated ventricular myocytes from rats and mice by computerized video-based imaging. Biological Procedures Online. 2001; 3: 43-53.

Rhee SG. Regulation of phosphoinositide-specific phospholipase C. Annual Reviews of Biochemistry. 2001; 70: 281-312.

Richelson E, Souder T. Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors: Focus on newer generation compounds. Life Sciences. 2000; 68: 29-39.

Riedel M, Musil R, Spellmann I, Seemüller F, Möller H-J. Quetiapine Xr–a new retard formulation in the treatment of schizophrenia. Eur Psychiatr Rev. 2008; 1: 70-75.

Riedel M, Müller N, Strassnig M, Spellmann I, Severus E, Möller H-J. Quetiapine in the treatment of schizophrenia and related disorders. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2007; 3: 219.

Saller CF, Salama AI. Seroquel: Biochemical profile of a potential atypical antipsychotic. Psychopharmacology. 1993; 112: 285-292.

Sanford M. Quetiapine extended release. CNS Drugs. 2011; 25: 803-813.

Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, Keating MT. A mechanistic link between an inherited and an acquird cardiac arrthytmia: HERG encodes the ikr potassium channel. Cell. 1995; 81: 299-307.

Santana LF, Chase E, Votaw V, Nelson MT, Greven R. Functional coupling of calcineurin and protein kinase a in mouse ventricular myocytes. The Journal of Physiology. 2002; 544: 57-69.

Satin J, Schroder EA. Autoregulation of cardiac L-type calcium channels. Trends in Cardiovascular Medicine. 2009; 19: 268-271.

Schmitt N, Grunnet M, Olesen S-P. Cardiac potassium channel subtypes: New roles in repolarization and arrhythmia. Physiological Reviews. 2014; 94: 609-653.

Sedvall G, Pauli S, Karlsson P, Farde L, Nordström A-L, Nyberg S , ve ark. Pet imaging of neuroreceptors in schizophrenia. European Neuropsychopharmacology. 1995; 5: 25-30.

Seeman P. Atypical antipsychotics: Mechanism of action. The Canadian Journal of Psychiatry. 2002; 47: 27-38.

Sequeira V, van der Velden J. Historical perspective on heart function: The frank–starling law. Biophysical Reviews. 2015; 7: 421-447.

Serretti A, Ronchi DD, Lorenzi C, Berardi D. New antipsychotics and schizophrenia: A review on efficacy and side effects. Current Medicinal Chemistry. 2004; 11: 343-358.

Singer WD, Brown HA, Sternweis PC. Regulation of eukaryotic phosphatidylinositol-specific phospholipase c and phospholipase d. Annual Review of Biochemistry. 1997; 66: 475-509.

Skibsbye L, Poulet C, Diness JG, Bentzen BH, Yuan L, Kappert U , ve ark. Small-conductance calcium-activated potassium (SK) channels contribute to action potential repolarization in human atria. Cardiovascular Research. 2014; 103: 156-167.

Solmi M, Murru A, Pacchiarotti I, Undurraga J, Veronese N, Fornaro M , ve ark. Safety, tolerability, and risks associated with first-and second-generation antipsychotics: A state-of-the-art clinical review. Therapeutics and Clinical Risk Management. 2017; 13: 757.

Stahl SM. Stahl's essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical applications. Cambridge University Press; 2021.

Stanniland C, Taylor D. Tolerability of atypical antipsychotics. Drug Safety. 2000; 22: 195-214.

Stöllberger C, Huber JO, Finsterer J. Antipsychotic drugs and QT prolongation. International Clinical Psychopharmacology. 2005; 20: 243-251.

Takuwa N, Ganz M, Takuwa Y, Sterzel RB, Rasmussen H. Studies of the mitogenic effect of serotonin in rat renal mesangial cells. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 1989; 257: 431-439.

Testai L, Bianucci A, Massarelli I, Breschi MC, Martinotti E, Calderone V. Torsadogenic cardiotoxicity of antipsychotic drugs: A structural feature, potentially involved in the interaction with cardiac herg potassium channels. Current Medicinal Chemistry. 2004; 11: 2691-2706.

Thase ME, Macfadden W, Weisler RH, Chang W, Paulsson B, Khan A , ve ark. Efficacy of quetiapine monotherapy in bipolar i and ii depression: A double-blind, placebo-controlled study (the bolder ii study). Journal of Clinical Psychopharmacology. 2006; 26: 600-609.

Villeneuve C, Caudrillier A, Ordener C, Pizzinat N, Parini A, Mialet-Perez J. Dose-dependent activation of distinct hypertrophic pathways by serotonin in cardiac cells. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. 2009; 297: 821-828.

Viskin S, Justo D, Halkin A, Zeltser D. Long qt syndrome caused by noncardiac drugs. Progress in Cardiovascular Diseases. 2003; 45: 415-427.

Wahl-Schott C, Biel M. Hcn channels: Structure, cellular regulation and physiological function. Cellular and Molecular life Sciences. 2009; 66: 470-494.

Walker K, Lakatta E, Houser S. Age associated changes in membrane currents in rat ventricular myocytes. Cardiovascular Research. 1993; 27: 1968-1977.

Wang L, Duff HJ. Developmental changes in transient outward current in mouse ventricle. Circulation Research. 1997; 81: 120-127.

Wang Q, Liu Y, Fu Q, Xu B, Zhang Y, Kim S , ve ark. Inhibiting insulin-mediated β2-adrenergic receptor activation prevents diabetes-associated cardiac dysfunction. Circulation. 2017; 135: 73-88.

WATTS W. Activation of the mitogen-activated protein kinase pathway via the 5-HT2A receptor. Annals of the New York Academy of Sciences. 1998; 861: 162-168.

Williams GV, Rao SG, Goldman-Rakic PS. The physiological role of 5-HT2A receptors in working memory. Journal of Neuroscience. 2002; 22: 2843-2854.

Williams SG, Alinejad NA, Williams JA, Cruess DF. Statistically significant increase in weight caused by low-dose quetiapine. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy. 2010; 30: 1011-1015.

Winter HR, Earley WR, Hamer-Maansson JE, Davis PC, Smith MA. Steady-state pharmacokinetic, safety, and tolerability profiles of quetiapine, norquetiapine, and other quetiapine metabolites in pediatric and adult patients with psychotic disorders. Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology. 2008; 18: 81-98.

Yang YR, Follo MY, Cocco L, Suh P-G. The physiological roles of primary phospholipase C. Advances in Biological Regulation. 2013; 53: 232-241.

Yung-Chi C, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (Ki) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I_{50}) of an enzymatic reaction. Biochemical Pharmacology. 1973; 22: 3099-3108.

Zhang JP. The benefits of antipsychotic drugs: Symptom control and improved quality of life. In Life-threatening effects of antipsychotic drugs. Elsevier. 2016;295-309.

Zhi-bin H, Chang F, Mao-huan L, Gui-yi Y, Shu-xian Z, Wei W. Effect of fosinopril on the transient outward potassium current of hypertrophied left ventricular myocardium in the spontaneously hypertensive rat. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2014; 387: 419-425.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Orhan	**Uyruğu**	TC
Soyadı	ERKAN	**Tel no**	
Doğum tarihi		**e-posta**	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		**Mezuniyet yılı**
Lise	Yalova Lisesi	2006
Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	2010
Yüksek Lisans	Trakya Üniversitesi	2013
Doktora	Akdeniz Üniversitesi	2023

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (yıl-yıl)**
Arş. Gör.	Kafkas Üniversitesi	2015-2016
Arş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi	2016-2023

Yabancı Dilleri	**Sınav türü**	**Puanı**
İngilizce	YDS	82,5

Proje Deneyimi

Proje Adı	**Destekleyen kurum**	**Süre (Yıl-Yıl)**
Rosuvastatinin sol ventrikül miyosit iyon kanalları üzerine akut etkisi	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)	2018-2018
Doksorubisin ile kalp yetmezliği oluşturulan sıçanlarda timokinonun kardiyoprotektif etkilerinin araştırılması	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)	2018-2021
Sıçan kardiyomiyositlerinde timokinonun akut etkisinin elektrofizyolojik yöntemler ile incelenmesi	Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)	2019-2020

Burslar-Ödüller:

1. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK); 1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı; Bursiyer
2. Poster İkincilik Ödülü. 4th International and 33rd National Turkish Biophysics Congress, Eylül 2023.

Yayınlar:

1. Acun AD, Kantar D, Er H, **Erkan O**, Derin N, Yargıcoglu P. Investigation of Cyclo-Z Therapeutic Effect on Insulin Pathway in Alzheimer's Rat Model: Biochemical and Electrophysiological Parameters. Molecular neurobiology (2023); 1-19
2. Ozturk N, **Erkan O**, Uslu S, Ozdemir S. Role of adenosine triphosphate and protein kinase a in the force-frequency relationship in isolated rat cardiomyocytes. Archives of Biological Sciences (2023); 75: 47-56
3. Gokce Y, **Erkan O**, Savas K, Rahman T, Yaras N. Pharmacological blockade of angiotensin II receptor restores diabetes-associated reduction of store operated Ca^{2+} entry in adult cardiomyocyt. Biochemical and Biophysical Research Communications 610 (2022); 56- 60
4. Yamasan BE, Mercan T, **Erkan O**, Ozdemir S. Ellagic Acid Prevents Ca^{2+} Dysregulation and Improves Functional Abnormalities of Ventricular Myocytes via Attenuation of Oxidative Stress in Pathological Cardiac Hypertrophy. Cardiovascular Toxicology (2021); 21:630–641
5. Yamasan BE, Mercan T, **Erkan O**, Ozdemir S. Acute Effect Of Thymoquinone On Action Potential And İonic Current Of Rat Cardiac Myocyte. Bratisl Med J (2021); 122 (6)424 – 431
6. Ozturk N, Uslu S, Mercan T, **Erkan O**, Ozdemir S. Rosuvastatin Reduces L-Type Ca^{2+} Current and Alters Contractile Function in Cardiac Myocytes via Modulation of β-Adrenergic Receptor Signaling. Cardiovascular Toxicology (2021); 21:422–431
7. **Erkan O**, Yamasan BE, Mercan T, Ozdemir S. Rosuvastatinin Sol Ventrikül Miyosit Kalsiyum ve Potasyum İyon Kanalları Üzerine Akut Etkisi. F.Ü. Sağ. Bil. Tıp. Derg. (2020); 34 (2): 161–166

Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler:

1. **Erkan, O**., Ozturk, N., Ozdemir, S. Effects of Norquetiapine, the Active Metabolite of Quetiapine, on Cardiac Electrophysiology. 4th International and 33rd National Turkish Biophysics Congress, İzmir, 2023.
2. **Erkan, O**., Ozturk, N., Ozdemir, S. The Effects of Antipsychotic Drug Quetiapine on Electrophysiological Parameters of Rat Ventricular Myocyte. 4th International and 33rd National Turkish Biophysics Congress, İzmir, 2023.
3. **Erkan, O**., Yamasan, B., Mercan, T., Erboga, N., & Ozdemir, S. (2018). The role of protein kinase A on magnesium related changes in contractile function of rat cardiac myocytes. Paper presented at the Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Amsterdam, 2018.
4. Mercan, T., Yamasan, B., **Erkan, O**., & Özdemir, S. (2018). Thymoquinone Alters İonic Currents And Decreases B Adrenergic Response İn Rat Ventricle Myocytes. Paper presented at the Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Amsterdam, 2018.
5. Ozdemir, S., Yamasan, B., Mercan, T., & **Erkan, O**. (2018). Rosuvastatin Modulates İonic Currents And Prolongs Action Potential Duration İn Rat Ventricular Myocyte. Paper presented at the Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Amsterdam, 2018.
6. Yamasan, B., Mercan, T., **Erkan, O**., & Ozdemir, S. (2018). The Effect Of Ellagic Acid On Isoproterenol-Induced Cardiac Hypertrophy. Paper presented at the Journal of Molecular and Cellular Cardiology, Amsterdam, 2018.
7. Mercan, T., Yamasan, B., **Erkan, O**., & Özdemir, S. (2017). Acute Effect Of Thymoquinone On Electrophysiological Parameters Of Rat Ventricular Myocyte. 34th Meeting of the ISHR-ES, Hamburg, Almanya,2017.
8. Yamasan B. E., Nasırcılar Ülker S., **Erkan O**., Şentürk Ü. K., Özdemir S. The Effect of Rosuvastatin Application on the Rat Aortic Smooth Muscle Cells. 1st International Health Sciences Congress, 2017.

Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler:

1. Dalaman U., **Erkan O**., Ozden S., Basarıcı I., Ozdemir S., Yaras S. Diyabetik Kardiyomiyopati ÜzerineAnjiyotensin1-7'nin Etkilerinin İncelenmesi. 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2019.
2. Sipahi T., Çetinsu V., Karlıkaya H. C., **Erkan O**., Yükçü F. Astım Hastalarında SPINK5 G-1258A Gen Polimorfizminin Araştırılması. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2013.
3. Yükçü F., Sipahi T., Güldiken S., Ekiz Bilir B., **Erkan O**. Tip II Diabetes Mellitus Hastalarında Ace Gen Polimorfizminin Diyabetik Nefropati ile İlişkisi. 25. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2013.
4. Yükçü F., Sipahi T., **Erkan O**., Ünlü A. Kazal Tip 5 Serin Proteaz İnhibitörünün Modellenmesi. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2012.
5. Sipahi T., Yükçü F., Karlıkaya H. C., **Erkan O**., Ünlü A. Astım Hastalarında Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnsersiyon/Delesyon Gen Polimorfizminin Belirlenmesi. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2012.
6. Gülyaşar T., **Erkan O**., Çakina S., Karlıkaya C., Sipahi T. Astım Hastalarında Serum Eser Element Düzeyleri. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2012.
7. **Erkan O**., Karlıkaya C., Sipahi T., Çetinsu V. Astım Hastalarında SPINK5 G206A Gen Polimorfizminin Araştırılması. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2012.
8. Yamasan B. E., Bakay D., Ünlü A., **Erkan O**., Karlıkaya C., Sipahi T. Astım Hastalarında Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz İntron 4 Vntr Gen Polimorfizminin Araştırılması. 24. Ulusal Biyofizik Kongresi, 2012.