

# Anorektik Ajan Sibutraminin Metabolik Sendromlu Sıçan Ventrikül Hücrelerinin Elektriksel Aktivitesine Toksik Etkilerinin Konsantrasyona Bağlı İncelenmesi

The Concentration-dependent Investigation of the Toxic Effects of the Anorectic Agent Sibutramine on the Electrical Activity of the Cardiomyocytes in Metabolic Syndrome Rat Heart

© Yusuf Olgar<sup>1</sup>, © Feyza Alyu<sup>2</sup>, © Yusuf Öztürk<sup>2</sup>, © Belma Turan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

## Öz

**Amaç:** Son yıllarda kısa sürede kilo kaybetmek için kullanılan sibutraminin (SBT) sistemik etki mekanizmaları arasında kahverengi yağ dokusu termogenezi, önemli yan etkileri arasında ise kalp fonksiyonunu bozucu etkileri öne çıkmaktadır. Çeşitli klinik bulgulara karşın, SBT'nin hücre seviyesindeki etkilerini gösteren çalışmalar çok sınırlıdır. Bu çalışmada SBT'nin metabolik sendrom (MetS) gelişmiş kilolu ve kalp fonksiyonları bozulmuş olan sıçan kardiyomyositlerinin elektriksel aktivitesine olası etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Wistar türü 2 aylık erkek sıçanlar standart yeme ek olarak %32 oranında sükröz içeren çeşme suyu ile (yüksek karbonhidrat içerikli diyet modeli) beslenerek (20-22 hafta) MetS oluşturulmuş ve vücut ağırlığı, açlık kan şekeri ile glukoz tolerans test verileri kullanılarak MetS gelişimi doğrulanmıştır. Kalp doku kesitleri masson trikrom ile boyanarak ışık mikroskobu ile incelenmiştir. İzole edilen ventrikül hücrelerinde aksiyon potansiyelleri patch-klamp yöntemi tüm hücre modunda ve akım-kenetleme konfigürasyonunda, voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımları volta-kenetleme konfigürasyonunda kaydedilmiş ve SBT etkileri *in vitro* konsantrasyona (10<sup>-8</sup>-10<sup>-5</sup> M) bağlı olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Belirgin kollejen artışı ile karakterize MetS kalplerden izole edilen kardiyomyositlerde uzamış olan aksiyon potansiyeli süresinin SBT uygulaması sonunda konsantrasyona bağlı olarak daha da uzadığı, aritmik bir davranış sergilediği gözlenmiştir. Bu uzamanın altında yatan nedenlerden olan voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımları incelendiğinde SBT'nin bu akımları doza bağlı olarak inhibe ettiği gözlenmiştir.

**Sonuç:** SBT'nin kilolu MetS kalp fonksiyonları üzerindeki zararlı ve aritmik etkileri arasında ventrikül hücrelerinde aksiyon potansiyelini uzatması ve bu uzamadan inhibe olan voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımları olduğu bu çalışmada gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Sibutramin, Elektriksel Aktivite, Aksiyon Potansiyeli, K<sup>+</sup>-Kanal Akımları, Obezite, Metabolik Sendrom

## Abstract

**Objectives:** Sibutramine (SBT) has been intensely used for losing weight over the past decades. In addition to the known mode of its action through brown adipose tissue thermogenesis, systemic actions reveal some side effects including alterations in cardiac function. Despite various clinical findings, the effect of SBT on cellular levels remains elusive. This study aimed to investigate the possible effects of sibutramine on the electrical activity of the cardiomyocytes from freshly isolated metabolic syndrome (MetS) rat hearts.

**Materials and Methods:** Wistar type 2-month-old male rats were used. The animals were fed (20-22 weeks) with tap water containing 32% sucrose in addition to standard feed (20-22 weeks). MetS were confirmed using higher body weight, higher fasting blood glucose, and impaired glucose tolerance test. Heart tissue sections were stained with Masson Trichrome and examined under light microscopy. All patch-clamp experiments were

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Belma Turan,

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Tel.: +90 312 595 81 86 E-posta: belma.turan@medicine.ankara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-2583-9294

Geliş Tarihi/Received: 12.08.2020 Kabul Tarihi/Accepted: 07.09.2020

©Telif Hakkı 2021 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.



## Abstract

performed in whole-cell mode, but action potentials were recorded in current-clamp configuration and voltage-gated K<sup>+</sup>-channel currents in voltage-clamp configuration from freshly isolated MetS cardiomyocytes. Acute SBT treatment was performed in a concentration-dependent manner (10<sup>-8</sup>-10<sup>-5</sup> M) for all cardiomyocytes.

**Results:** Histological examinations reveal that MetS hearts are characterized by a marked increase in collagen depositions. Electrophysiological findings show the significant prolongation in action potential duration, indicate pro-arrhythmic action for SBT treatment in a concentration-dependent manner. As voltage-gated K<sup>+</sup>-channel currents (I<sub>K</sub>) are responsible for changes in the repolarization of the action potentials (AP) in ventricular cardiomyocytes acute SBT treatment reduced I<sub>K</sub> channels significantly.

**Conclusion:** This study showed that the effects of SBT on prolongation of action potential and reduction in I<sub>K</sub> channel density include pro-arrhythmic and detrimental outcomes in overweighed MetS hearts.

**Key Words:** Sibutramine, Electrical Activity, Action Potential, K<sup>+</sup>- Current, Obesity, Metabolic Syndrome

## Giriş

Modern yaşam olarak tanımladığımız yaşam tarzı, günümüzde tüm toplumlarda bireylerin karşı karşıya olduğu çok ciddi bir sağlık sorunu olan obezitenin (Obz) ve/veya metabolik sendromun (MetS) görülme oranının hızla artmasına neden olmaktadır. Artan sosyo-ekonomik düzey, bireylere beraberinde hazır gıdaların daha fazla miktarlarda tüketimini ve daha hareketsiz durağan bir yaşam tarzını getirmiştir. Böylece, bir dizi metabolik sorunun bir arada görülme sıklığı artmaktadır. Abdominal obezite, hiperglisemi, hipertrigliseridemi, düşük serum yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeyleri ve hipertansiyon gibi sistemik bozukluklar bireyler arasında sıklıkla görülmektedir (1-4). Obz ve MetS'den kaynaklanan kardiyovasküler risk faktörünün kilolu vücut ağırlığı (overweightness) ve gelişen insülin direnci ile olan ilişkisi de klinik ve deneysel çalışmalarda vurgulanmıştır (3).

Obz ve/veya MetS olan bireyler yanında deneysel olarak bu sendromların oluşturulduğu hayvanlarda önemli derece kardiyovasküler bozuklukların gözleendiği bilinmektedir (5-11). Obz ve/veya MetS ilişkili olarak bireylerde ve deney hayvanlarında hipertansiyon yanında, elektrokardiyografide (EKG) değişmeler ve kalbin mekanik aktivitesinde azalmalar gözlenmiştir (12-20). Kardiyomiyositlerde yapılan çalışmalarda, aksiyon potansiyeli (AP) süresinde uzamave özellikle K<sup>+</sup>-kanal akımlarında belirgin inhibisyon gözlenmiştir (21-24). Prevalansı dünyanın bütün ülkelerinde hızla artan, yetişkinler yanında çocuklar için de önemli bir sorun olan Obz ve/veya MetS, kardiyovasküler bozukluklar yanında psikolojik sorunlar da oluşturmaktadır (25). Bu nedenlerle Obz ve/veya MetS gibi toplumu ilgilendiren sorunların çözümü de toplumları yakından ilgilendirmektedir (26,27). Diğer yandan çeşitli veriler Obz ve/veya MetS'nin önlenbilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olduğunu göstermektedir (28,29).

Kilo kaybı sağlayan ilaçlar diyetle yardımcı olarak önerilmektedirler. Sibutramin, iştah azaltarak kilo kaybı sağlayabilen ve bu nedenle Obz tedavisinde kullanılan

serotonin, noradrenalin ve daha zayıf bir şekilde de dopamin geri alımını engelleyen buna karşın çeşitli yan etkileri arasında kardiyovasküler ve psikiyatrik etkileri olan bir beta feniletamindir (5,30-35). Bu ilacın yan etkilerinin moleküler mekanizması tam olarak henüz çalışılmamış olduğundan, bu çalışmada, elektriksel aktivitesi bozulmuş olan MetS sıçan kardiyomiyositlerde *in vitro* koşullarda sibutramin uygulamasının etkilerinin elektrofizyolojik olarak incelenmesi hedeflenmiştir.

## Gereç ve Yöntemler

### Hayvanların Genel Özellikleri

Başlangıç ağırlıkları 180-200 g arasında değişen, 2 aylık Wistar türü erkek sıçanlar Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir (Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 2015-10-125). Çalışmamızda hayvanları iki gruba ayrılarak, birinci gruba (kontrol) standart sıçan yemi ve çeşme suyu verilirken, ikinci gruba standart sıçan yemine ek olarak %32 oranında (935 mM) sükröz içeren çeşme suyu verilmiş (yüksek karbonhidrat içerikli diyet modeli) ve MetS deney modeli oluşturulmuştur (36,37). Bu besleme protokolünü daha önce bölümümüzde yapılan çalışmanın verilerine göre 16. haftadan sonra açlık kan şekerinde ve vücut ağırlıklarında değişim gözlenmeye başlanmış ve sükröz ile besleme süresi 20-22 hafta olarak belirlenmiştir (37,38). Kontrol grubu (Kon) sıçanlar aynı süre içinde standart sıçan yemi ile beslenmişlerdir.

### Kardiyomiyositlerin İzolasyonu

Yirmi haftalık deney süresi sonunda deney gruplarında bulunan hayvanlar hafif anestezi altında iken (30 mg/kg sodyum pentobarbital) kalpleri hızlı bir şekilde disekte edilip, soğuk ve Ca<sup>+2</sup>sız fizyolojik bir çözelti içerisine konularak, kollajenaz perfüzyon yöntemi ile hücre izolasyonu yapılmıştır (39). Kısaca; Langerdorff-perfüzyon düzeneği yardımıyla aorttan ters perfüzyon ile önce içeriği; (mmol/L olarak) 130 NaCl, 5,4 KCl, 1,4 MgCl<sub>2</sub>, 0,4 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5 HEPES, 10 glukoz, 20 Taurine, pH 7,4 olan ve 100% O<sub>2</sub> ile gazlandırılan, Ca<sup>+2</sup>sız perfüzyon çözeltisi ile

5 dk boyunca perfüze edildikten sonra, kollajenaz (1,2 mg/mL) içeren içeren çözelti ile 35-40 dakika boyunca perfüze edilmiştir. Enzimatik yolla taze kardiyomiyosit elde edilme protokolü çerçevesinde kalp dokusunun parçalanması sağlanarak sol ventrikül kısmından kardiyomiyositler izole edilmiştir. İzole edilen hücreler 37 °C'de, çözeltideki son  $Ca^{+2}$  miktarı 1 mM olacak şekilde kademeli olarak 0,3-0,5-1 mM  $Ca^{+2}$  içeren çözelti ile yıkanarak ölü hücrelerden arındırılmış ve elektrofizyolojik deneyler için hazır hale getirilmiştir.

### Aksiyon Potansiyellerinin Kaydedilmesi

Taze izole edilen ventrikül hücreleri içeriği (mmol/L olarak; 137 NaCl; 4 KCl; 10 HEPES; 1  $MgCl_2$ ; 1,8  $CaCl_2$ , pH: 7.35) olan banyo solüsyonunda bekletilmiştir. Tüm AP kayıtları direnci 2-2.5 M $\Omega$ 'luk elektrodlar yardımıyla 0,5 Hz'lik frekansta yapılmıştır. Pipet içi solüsyon (mmol/L): 140 KCl; 3 MgATP; 5; 0.4  $Na_2GTP$ ; 5 EGTA; 5 HEPES; 25 (pH=7,2). Elektrofizyolojik kayıtlar için patch-clamp akım-kenetleme yönteminin tüm-hücre konfigürasyonunda, hücre içine küçük depolarize edici pulslar (5 nA-4 ms özellikte) enjekte edilerek hücrenin uyarılması sağlanmış ve sonra membran potansiyel değişim desenleri (AP'ler) gözlenmiştir. Online olarak kaydedilen voltaj-değişimlerinden Clamp-Fit programı yardımıyla analizler yapılarak AP parametreleri elde edilmiştir.

### Voltaj-kapılı $K^+$ -kanal Akımlarının Kaydedilmesi

Voltaj-kapılı  $K^+$ -kanal akımları ( $I_K$ ), patch-clap voltaj kenetleme yönteminin tüm-hücre konfigürasyonunda kaydedilmiştir. Bunun için hücrenin G $\Omega$  düzeyinde direnç oluşturacak şekilde elektrod (cam pipet) ucuna yapışması sağlandıktan sonra çok kısa süreli kare-biçimli elektrik pulsu uygulanarak hücre zarı kırılmıştır. Kenetlemeden sonra zar potansiyeli -70 mV düzeyinde tutulan hücrelere 3000 ms'lik pulslar 5 s'lik aralıklarla uygulanmıştır. Patch-clamp amplifikatörünün (Axon 200B, Molecular Devices, USA) voltaj kenetleme modunda 3 kHz'lik filtreden geçirilen  $I_K$ 'rı, Digidata 1200'ün 5 kHz'lik örnekleme hızında pClamp 10 yazılımı (Axon Instrument, Foster City CA, USA) ile kaydedilmiştir. Kayıt için 1,5-2,5 M $\Omega$ 'luk elektrodlar kullanılırken, kenetleme sonrası giriş (access) direncinin 6 M $\Omega$  ve altında olmasına özen gösterilmiştir. Bu akımlar için kullanılan çözeltiler banyo için (mmol/L): 137 NaCl; 4 KCl; 1,8  $CaCl_2$ ; 1  $MgCl_2$ ; 10 Glukoz; 10 HEPES (pH=7,40), pipet için ise (mmol/L): 130 KCl; 20 KCl; 3 MgATP; 0.4  $NaGTP$  25 K-HEPES 5 EGTA (pH=7,2) olacak şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca  $Ca^{2+}$ -kanal akımlarını bloke etmek için ortama  $CdCl_2$  (250  $\mu M$ ) eklenmiştir. Geçici (transient)  $I_K$  akımlarının ( $I_{to}$ ) tepe değerlerinden 500 ms'lik pulsun son bölümündeki akımlar (Iss) çıkarılarak hesaplanmıştır. Hücre içine doğrultucu  $I_K$ 'lar ( $I_{K1}$  akımları) ise 200 ms'lik pulsların kuyruk kısımlarının akım değerlerinden hesaplanmıştır. Daha sonra, her iki akım için ölçülen tepe değerleri hücreler arası büyüklük değişiminden

kaynaklanabilecek sapmaları önlemek amacıyla hücre sığasına (hücrenin yüzey alan bilgisini verir) oranlanarak akım yoğunluğu cinsinden değerlendirilmiştir.

### Dokuların Işık Mikroskobu ile İncelemesi

Hayvanların sakrifikasyonunu takiben alınan sol ventriküle ait doku örnekleri %10 tamponlu nötral formalin solüsyonunda 72 saat tesbit edildikten sonra çeşme suyunda yıkanmıştır. Dokuların dehidratasyon işlemi için sırasıyla %75, %96 ve %100 etanol serilerinden geçirildikten sonra ksilol ile şeffaflandırma işlemi uygulanmıştır. Şeffaflaşan doku örnekleri parafin ile 56 °C'de etüvde 4 saat muamele edilmiş ve sonrası parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan Rotary-mikrotomda (Leica RM 2125 RT Bensheim, Germany) 5-mm kalınlığında seri kesitler lam üzerine alınarak, kesitlere masson trikrom (MT) boyama protokolü uygulanmıştır. Boyalı kesitler ışık mikroskobu (Carl Zeiss AxioScope. A1 microscope, Oberkochen, Germany) ile incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Mavi renkli alanlar kollajen liflerin artış gösterdiği fibrosis-alanları olarak değerlendirmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Tüm deney sonuçları ortalama ( $\pm$  standart hata ortalaması) olarak verilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlılık seviyesi One-Way ANOVA (tukey-post-hoc) testi kullanılarak belirlenmiştir. Tüm değerlendirmelerde, istatistiksel anlamlılık test değeri ( $p < 0,05$ ) seçilmiştir.

## Bulgular

### Deney Hayvanları ile İlgili Genel Bulgular

Bu çalışmada, öncelikle daha önce yayınlanmış olan çalışmalarımızda olduğu gibi, sıçanlarda deneysel olarak MetS oluşturmak için, %32 oranında sükröz içeren içme suyu kullanılmış olup, bu hayvanların MetS kriterlerinden en az 3 parametreleri ölçülerek model doğrulanmıştır. Normal standart diyetle beslenen sıçanlarla karşılaştırıldığında bu grup hayvanlarda insülin direnci gelişimi gözlenmiş olup, glukoz intoleransı, vücut ağırlığında yüzde olarak  $18 \pm 5$  artış ve kan şekerlerinde ise  $17 \pm 4$  ( $p < 0,05$ ) yükseklik gözlenmiştir (Tablo 1). Bu veriler önceki çalışmalarımızla uyumludur (16-18,37).

Bu grup hayvanlarda kalp fonksiyon bozukluğunun geliştiği EKG ve mekanik aktiviteler ölçülerek daha önceki çalışmalarımızda gösterilmiş olduğu için (15-18,37), bu çalışmada sol ventrikül

**Tablo 1: Hayvanlara ait genel parametreler**

Gruplar	Vücut ağırlığı (g)	Açlık kan şekeri (mg/dL)
Kon (N=7)	381 $\pm$ 24	73,3 $\pm$ 0,8
MetS (N=7)	452 $\pm$ 20*	97,3 $\pm$ 4,8*

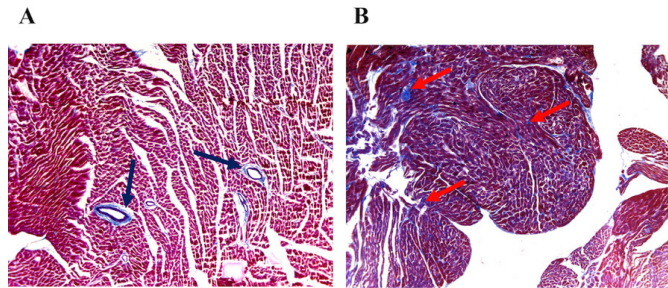
MetS: Metabolik sendrom grubunu ve Kon: Kontrol grubunu göstermektedir. N, deneyde kullanılan hayvan sayısını ve \* $p < 0,05$  kontrole göre istatistiksel karşılaştırma değerini göstermektedir.

dokularında ışık mikroskobu incelemeleri yapılmıştır. Şekil 1'de görüldüğü gibi, MT ile boyanmış sol ventrikül doku kesitlerinde Kon'da normal doku görünümüne karşılık (Şekil 1A), MetS grubuna ait doku kesitlerinde miyokardiyumda bağ doku artışı ve miyofibril kaybı olduğu gözlenmiştir (Şekil 1B). Bu bulgular MetS grubu sol ventrikül dokusunda artan fibroz oluşumunu vurgulamaktadır.

### Sibutraminin İzole Kardiyomiyositlerde Aksiyon Potansiyeli Parametrelerine Konsantrasyona Bağlı Etkileri

MetS'in kalbin elektriksel ve mekanik aktivitelerini etkileyerek kalp fonksiyonlarının bozulmasına neden olduğu daha önceki çalışmalarımızda gösterilmiştir. Bu bozulmalarda izole kardiyomiyositlerdeki AP'leri parametrelerindeki değişimlerin neden olduğu da yine izole ventrikül hücrelerinde gösterilmiştir (16-18,37). Bu çalışmada da bu bulguları konfirm etmek için öncelikle MetS olmayan Kon ile karşılaştırmalı olarak AP parametreleri ölçülmüştür. MetS grubunda ortalama olarak dinlenme membran potansiyelinin (Kon vs. MetS;  $-75,0 \pm 1,0$  mV ve  $-73,0 \pm 1,2$  mV) değişmediği buna karşın AP genişliğinin ortalama olarak yüzde  $6,0 \pm 2,1$  oranında arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, repolarizasyon sürelerinin (repolarizasyonun AP'nin tepe değerinden %25, 50 ve 90'ına düşüş süreleri; AP<sub>25'</sub>, AP<sub>50'</sub> ve AP<sub>90'</sub>) de çok yavaşladığı (yaklaşık %300) gözlenmiştir. Gruplara ait orijinal AP kayıtları Şekil 2 A'da verilmiştir.

Kardiyomiyositlere akut olarak (*in vitro*) sibutramin uygulamasının AP parametreleri üzerine etkileri konsantrasyona bağlı olarak ( $10^{-8}$ - $0^{-5}$ M) incelendiğinde, dinlenme membran potansiyeli etkilenmezken [Şekil 2 (solda)], AP genişliğinin sibutraminin  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M değerlerinde önemli derecede azaldığı ( $p < 0,05$ ) [Şekil 2 (ortada)] ve kontrollere göre uzun olan AP süresinin daha da uzadığı (%40 ve %55,  $p < 0,05$ ) [Şekil 2 (sağda)] gözlenmiştir. Sibutraminin repolarizasyon sürelerindeki etkileri için hesaplanan IC (mM) değerleri AP<sub>25'</sub>, AP<sub>50'</sub> ve AP<sub>90'</sub> için sırasıyla 1,18, 2,66 ve 0,46 hesaplanmıştır.



**Şekil 1:** Kontrol grubuna (Kon) A) ve metabolik sendrom (MetS) grubuna B) ait sol ventrikül kesitlerinde ışık mikroskobu incelemeleri. Siyah ok: Damarların adventisya tabakasını (A) ve kırmızı ok: Kardiyomiyositler çevresinde yoğunlaşan kollajen lifleri ve artmış fibrozisi işaret etmektedir. Boya: Masson Trikrom ve büyüme: x100

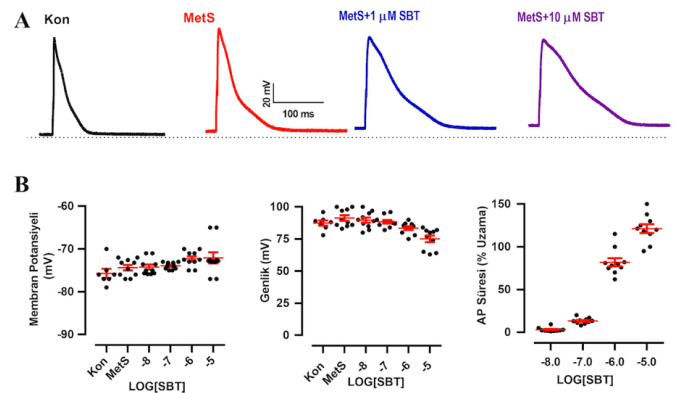
### Sibutraminin MetS'li Sıçan Kardiyomiyositlerinde Voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal Akımlarına Etkileri

Ventriküler kardiyomiyositlerde AP repolarizasyon fazındaki değişimlerden daha çok voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımları (I<sub>K</sub>) sorumlu olduğundan, daha önceki çalışmalarımıza benzer olarak öncelikle bu akımlar MetS grubunda ölçülerek Kon ile karşılaştırılmıştır (16). Orijinal I<sub>K</sub> kayıtları Şekil 3 A'da verilmiştir. Bu grupların bu kanallarına ait akım-voltaj karakteristiklerini incelemek için, voltaj-kenetleme-120 mV'den +70 mV'ye kadar yapılarak akım ölçümleri alınmış ve grafikte görüldüğü gibi gruplar için değişimler gösterilmiştir (Şekil 3B).

Toplam ölçülen I<sub>K</sub>'lerden hızlı inaktive olan kısmı (I<sub>K1</sub>) incelendiğinde, MetS grubunda bu akımın kontrollere göre +70 mV'de azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (MetS:  $10,35 \pm 0,87$  pA/pF, Kon:  $20,13 \pm 1,0$  pA/pF,  $p < 0,05$ ). Sibutraminin konsantrasyona bağlı etkileri Şekil 3C'de verilmektedir (orta). Bu akımların yine +70 mV'de 10- $\mu$ M sibutramin etkisinde ölçülen değerinin yaklaşık %35 oranında inhibe olduğu gözlenmiştir [Şekil 3B (sağ)].

MetS grubunda I<sub>K1</sub>'lerin ( $-8,49 \pm 0,53$  pA/pF, N=12) Kon'a göre ( $-7,58 \pm 10,61$  pA/pF, N=10) g değişmediği (-120 mV'de ölçülen) gözlenmiştir. Sibutramin uygulaması bu akımları konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiği, özellikle 10- $\mu$ M sibutraminin negatif voltajlarda (-120 mV) yaklaşık %50 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir [Şekil 3B (sağ)].

Akım protokol kaydında I<sub>ss</sub> olarak adlandırılan kuyruk akımlarının MetS grubunda kontrollere göre (+70 mV'de)



**Şekil 2:** Konsantrasyona bağlı akut sibutramin (SBT) uygulamasının MetS'li sıçan kardiyomiyositlerinden elde edilmiş aksiyon potansiyeli parametrelerinin değerlendirilmesi. A) Kontrol, MetS ve akut SBT uygulamasına ait örnek aksiyon potansiyeli desenleri. B) Akut SBT uygulamasının MetS'li kardiyomiyositlerde dinlenme membran potansiyeli (solda), genlik (ortada) ve repolarizasyon fazına (sağda) (%90) olan etkisi gösterilmektedir. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir. Deneylerde kullanılan hayvan ve hücre sayısı; N<sub>hayvan</sub>=7, N<sub>hücre</sub>=7-10. \* $p < 0,05$  MetS grubuna göre.

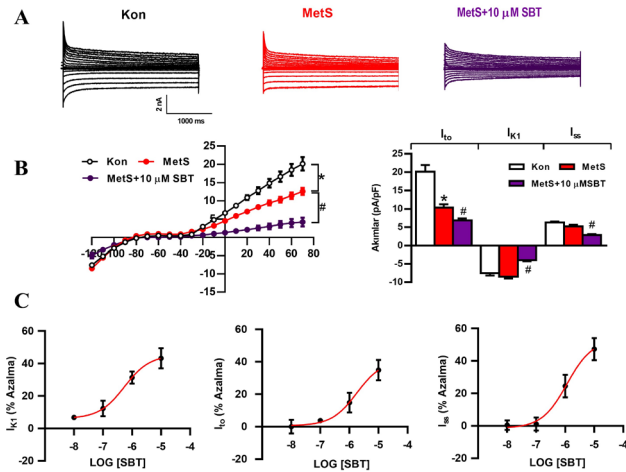
Kon: Kontrol grubu, MetS: Metabolik sendrom, SEM: Standart hata ortalaması



azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (MetS:  $5,15 \pm 0,48$  pA/pF, Kon:  $6,25 \pm 0,28$  pA/pF, SBT:  $2,83 \pm 0,26$ ) Sibutramin uygulamasının bu akımlar üzerindeki konsantrasyona bağlı etkisi Şekil 3C'de (sağ taraf) gösterilmiş ve  $10\text{-}\mu\text{M}$  sibutramin etkisinde  $+70$  mV'de ölçülen değerinin ise yaklaşık %47 oranında azaldığı gözlenmiştir [Şekil 3 B (sağ)]. Sibutraminin hesaplanan IC değerleri sırasıyla  $I_{to}$  için  $0,19$ ,  $I_{K1}$  için  $0,55$  ve  $I_{ss}$  için  $1,15$  olduğu görülmektedir.

## Tartışma

Genel olarak bireylerde alınan enerjinin harcanana oranının artması ile gelişen obezite (Obz) ve/veya MetS, kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (5-11,15,16,18,19). Önceki çalışmalarımızda, yüksek sükröz ile beslenen sıçanlarda deneysel olarak MetS oluşturularak (kilolu, kan şekeri yüksek ve insülin direnci gelişmiş) kalp fonksiyonları (hem mekanik hem de elektriksel aktiviteler) incelenmişti. Bu model benzeri bireylerde çeşitli kilo kaybı sağlayan ilaçların ve/veya kimyasal ajanların kullanıldığını ve böylece organ fonksiyon bozukluklarının engellenmeye çalışıldığı bilinmektedir. Bunlar arasında sibutramin, iştah azaltarak kilo kaybı sağlayabilen ve bu nedenle Obz tedavisinde kullanılan serotonin, noradrenalin ve daha zayıf bir şekilde de dopamin geri alımını engelleyen bir ilaçtır (5,30-35). Bu ilaç bireylerdeki çeşitli yan etkileri arasında



**Şekil 3:** Akut sibutramin (SBT) uygulamasının voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımlarına olan etkisinin değerlendirilmesi. A) Kontrol, MetS ve akut SBT ( $10\text{-}\mu\text{M}$ ) uygulamasına ait örnek voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akım desenleri. B) Supramaksimal SBT uygulamasının MetS'li kardiyomiyositlerde akım-voltaj (I-V) karakteristiğine olan etkisi verilmiştir (solda). Sibutraminin  $I_{K1}$ , maksimum içeri doğru ( $-120$  mV),  $I_{to}$ , geçici maksimum dışarı doğru ( $+70$  mV) ve inaktive olmayan ( $I_{ss}$ ) akımlarına ( $+70$  mV) etkisi gösterilmiştir. C) Konsantrasyona bağlı SBT uygulamasının  $I_{K1}$ ,  $I_{to}$  ve  $I_{ss}$  akımlarına etkisi gösterilmektedir. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak verilmiştir. Deneylerde kullanılan hayvan ve hücre sayısı;  $N_{hayvan}=7-8$ ,  $N_{hücre}=7-12$ . \* $p<0,05$  kontrole göre, # $p<0,05$  MetS grubuna göre.

Kon: Kontrol grubu, MetS: Metabolik sendrom, SEM: Standart hata ortalaması

ciddi kardiyovasküler etkileri de bulunan bir beta feniletilamin olup, henüz yan etkilerinin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, sibutraminin kardiyovasküler bozukluklardaki rolünün moleküler mekanizması özellikle kalp fonksiyonu bozulmuş kilolu sıçan kardiyomiyositlerinde incelenmiştir. Sibutraminin *in vitro* koşullarda uygulanmasının elektriksel aktivitesi bozulmuş olan MetS sıçan kardiyomiyositlerde AP'de çok önemli uzamalara neden olduğu, bu uzamalara dayalı, aritmik AP'leri gözlemlendiği ve bunların altında yatan nedenin voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımlarındaki ( $I_K$  kapsamında;  $I_{to}$ ,  $I_{K1}$ ,  $I_{ss}$  akımları) ciddi inhibisyonlar olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular literatürdeki ilk bulgulardır.

Geçici dışarı doğru voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımı olarak adlandırılan  $I_{to}$ , memeli kardiyomiyositlerinde AP süresine (özellikle uzamalara) katkıda bulunan önemli bir tip K<sup>+</sup>-kanal akımıdır (40-42). Bu tip akımların kontrol altında olması kalpte aritmi oluşumuna karşı koruyucu etki oluşturmaktadır (16,17,43-46). Bir diğer tip AP'lerde repolarizasyon akımı olarak bilinen ve voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımı olan  $I_{ss}$ , dışa yönelmiş rektifiye bir akım olup AP süresini regüle eder (43,47). Bu akımların inhibe olması AP süresinde çok ciddi uzamalara ve EKG'lerde önemli QT-uzamasına neden olur (23,48). Sibutramin bu akımları MetS grubunda daha da inhibe ettiğine göre, bu ilacın kullanılması bireylerde ciddi EKG bozukluklarına neden olabileceği açıkça görülmektedir.

Memeli kardiyomiyositlerinde içeri yönelmiş rektifiye bir tip voltaj-kapılı K<sup>+</sup>-kanal akımı olan  $I_{K1}$ , kardiyomiyosit AP'nin plato evresinde önemli rol oynamakta olup, dinlenme membran potansiyelinin regülasyonunda (negatif membran potansiyellerinde dışarı K<sup>+</sup>-çıkışı sağlayarak) önemli rol oynamaktadır (49,50). Bu çalışmada sibutraminin konsantrasyona bağlı olarak inhibe olmuş olan bu akımı daha da fazla inhibe olmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu hususta yapılan klinik incelemelerde, sibutraminin obezite tedavisinde kullanılmasının bireylerde akut miyokard infarktüsüne, QT-aralığında uzamaya ve kalp durmasına (arrest) ve ani ölümlere (sudden cardiac death) neden olduğu gösterilmiştir (48,51,52).

Kim ve ark. (53) sibutraminin kobay papiller kas AP parametrelerine, kombinant hERG akımlarına ( $I_{HERG}$ ) ve sıçan kardiyomiyosit içeri doğru katyon akımlarına ( $I_{Na}$  ve  $I_{Ca}$ ) etkilerini incelenmişlerdir. Bu çalışmada  $30$  mg/mL sibutraminin AP süresinde önemli kısalmalara neden olduğu, buna karşın iyonik akımları önemli derecelere inhibe ettiği gösterilmiştir. Başka çalışmalarda, araştırmacılar *in vivo* sibutramin kullanılmasının güvenliği ve kullanım dozu ile ilgili çalışmalar yapmışlar ve güvenlik sınırı ile ilgili veriler sunmuşlardır (54,55). Buna karşın, Jain ve ark. (55) yaptıkları incelemede yüksek dozda sibutramin kullanılmasının bireylerde geçici tiroid-toksitesine neden olduğunu göstermişlerdir. Bir başka olguda bu ilacın genç bir bireyde önemli manik depresyona neden olduğu gösterilmiştir (56).

Sibutramin kilo kontrolü için obezite tedavisinde kullanılan bir beta feniletamin olup, antidepresan olarak da kullanılmaktadır (57-59). Çeşitli yan etkileri yanında kardiyovasküler sistem üzerindeki istenmeyen etkilerinin başat olduğu bu çalışmadaki bulgularla da gösterilmiştir (60-63). Bunlara ek olarak, sibutramin tedavisinin uykusuzluk ve inme olmak üzere birçok yan etkisi olduğundan, ülkemizde kullanılmasının yasaklandığı bildirilmiştir (64,65).

## Sonuç

Memeli kardiyomiyositlerinde voltaj-kapılı  $K^+$ -kanal akımları, kardiyomiyosit AP'nin plato evresinde önemli rol oynamakta olup, dinlenme membran potansiyelinin oluşumu ve sürdürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Sibutraminin kilolu MetS kalp fonksiyonları üzerindeki zararlı ve aritmik etkileri arasında ventrikül hücrelerinde AP'yi uzatması ve bu uzamadan inhibe olan voltaj-kapılı  $K^+$ -kanal akımlarının sorumlu olduğu bu çalışmada gösterilmiştir. Klinik bulgular sibutraminin akut miyokard enfarktüsü QT-aralığında uzama ve ani ölümlere neden olacağı gösterilmiş bu değişiminin ana nedenlerinden birinin baskılanmış voltaj-kapılı  $K^+$ -kanal akımlarının olabileceği gösterilmiştir.

## Etik

**Etik Kurul Onayı:** Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (no: 2015-10-125).

**Hasta Onayı:** Bu çalışmada hayvan deneyi olduğundan, hasta onayı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulunun dışından ve içinden olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

## Yazarlık Katkıları

Konsept: B.T., Y.Ö., Dizayn: B.T., Y.Ö., Veri Toplama veya İşleme: Y.O., ve F.A., Analiz veya Yorumlama: Y.O., F.A., B.T., Y.Ö., Literatür Arama: Y.O., F.A., Yazan: B.T.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansal Destek:** Bu çalışmanın finansal desteği, TÜBİTAK SBAG-216S979 no'lu projeden sağlanmıştır.

## Kaynaklar

1. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-1607.
2. Kahn R, Buse J, Ferrannini E, et al. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;366:1921-1922.
3. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120:1640-1645.
4. Chinali M, de Simone G, Roman MJ, et al. Cardiac markers of pre-clinical disease in adolescents with the metabolic syndrome: the strong heart study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:932-938.
5. Zannad F, Gille B, Grentzinger A, et al. Effects of sibutramine on ventricular dimensions and heart valves in obese patients during weight reduction. *Am Heart J*. 2002;144:508-515.
6. Bassuk SS, Manson JE. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99:1193-1204.
7. Sullivan PW, Ghushchyan V, Wyatt HR, et al. Impact of cardiometabolic risk factor clusters on health-related quality of life in the U.S. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15:511-521.
8. Balkau B, Deanfield JE, Després JP, et al. International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): a study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation*. 2007;116:1942-1951.
9. Cannon CP, Kumar A. Treatment of overweight and obesity: lifestyle, pharmacologic, and surgical options. *Clin Cornerstone*. 2009;9:55-68.
10. Whaley-Connell A, Sowers JR, McCullough PA, et al. Diabetes mellitus and CKD awareness: the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Am J Kidney Dis*. 2009;53:11-21.
11. Gonçalves FB, Koek M, Verhagen HJ, et al. Body-mass index, abdominal adiposity, and cardiovascular risk. *Lancet*. 2011;378:227.
12. Grundy SM, Benjamin LJ, Burke GL, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*. 1999;100:1134-1146.
13. Ren J, Kelley RO. Cardiac health in women with metabolic syndrome: clinical aspects and pathophysiology. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17:1114-1123.
14. Zhou X, Ma L, Habibi J, et al. Nebivolol improves diastolic dysfunction and myocardial remodeling through reductions in oxidative stress in the Zucker obese rat. *Hypertension*. 2010;55:880-888.
15. Akdas S, Turan B, Durak A, et al. The Relationship Between Metabolic Syndrome Development and Tissue Trace Elements Status and Inflammatory Markers. *Biol Trace Elem Res*. 2020;198:16-24.
16. Durak A, Olgar Y, Degirmenci S, et al. A SGLT2 inhibitor dapagliflozin suppresses prolonged ventricular-repolarization through augmentation of mitochondrial function in insulin-resistant metabolic syndrome rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17:144.
17. Durak A, Olgar Y, Tuncay E, et al. Onset of decreased heart work is correlated with increased heart rate and shortened QT interval in high-carbohydrate fed overweight rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017;95:1335-1342.
18. Okatan EN, Durak AT, Turan B. Electrophysiological basis of metabolic-syndrome-induced cardiac dysfunction. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016;94:1064-1073.
19. Okatan EN, Tuncay E, Hafez G, et al. Profiling of cardiac  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in the cardiac left ventricle of rats with metabolic syndrome: Comparison with streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93:517-525.
20. Okatan EN, Turan B. The contribution of phosphodiesterases to cardiac dysfunction in rats with metabolic syndrome induced by a high-carbohydrate diet. *Can J Physiol Pharmacol*. 2019;97:1064-1072.
21. Casis O, Echevarria E. Diabetic cardiomyopathy: electromechanical cellular alterations. *Curr Vasc Pharmacol*. 2004;2:237-248.
22. Shimoni Y. Inhibition of the formation or action of angiotensin II reverses attenuated  $K^+$  currents in type 1 and type 2 diabetes. *J Physiol*. 2001;537:83-92.
23. Shimoni Y, Ewart HS, Severson D. Insulin stimulation of rat ventricular  $K^+$  currents depends on the integrity of the cytoskeleton. *J Physiol*. 1999;514:735-745.
24. Qin D, Huang B, Deng L, et al. Downregulation of  $K^+$  channel genes expression in type I diabetic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;283:549-553.

25. Sweeting HN, West PB, Der GJ. Explanations for female excess psychosomatic symptoms in adolescence: evidence from a school-based cohort in the West of Scotland. *BMC Public Health*. 2007;7:298.
26. Haslam D, Sattar N, Lean M. ABC of obesity. Obesity--time to wake up. *BMJ*. 2006;333:640-642.
27. Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry*. 2010;67:220-229.
28. Dibaise JK, Foxx-Orenstein AE. Role of the gastroenterologist in managing obesity. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;7:439-451.
29. Yanovski SZ, Yanovski JA. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA*. 2014;311:74-86.
30. Van Gaal LF, Wauters MA, De Leeuw IH. Anti-obesity drugs: what does sibutramine offer? An analysis of its potential contribution to obesity treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1998;106:35-40.
31. Bray GA, Blackburn GL, Ferguson JM, et al. Sibutramine produces dose-related weight loss. *Obes Res*. 1999;7:189-198.
32. Hazenberg BP. Randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study of sibutramine in obese hypertensive patients. *Cardiology*. 2000;94:152-158.
33. Smith IG, Goulder MA; Sibutramine Clinical Study 1047 Team. Randomized placebo-controlled trial of long-term treatment with sibutramine in mild to moderate obesity. *J Fam Pract*. 2001;50:505-512.
34. Torp-Pedersen C, Caterson I, Coutinho W, et al. Cardiovascular responses to weight management and sibutramine in high-risk subjects: an analysis from the SCOUT trial. *Eur Heart J*. 2007;28:2915-2923.
35. Yun J, Chung E, Choi KH, et al. Cardiovascular Safety Pharmacology of Sibutramine. *Biomol Ther (Seoul)*. 2015;23:386-389.
36. Vasanji Z, Cantor EJ, Juric D, et al. Alterations in cardiac contractile performance and sarcoplasmic reticulum function in sucrose-fed rats is associated with insulin resistance. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291:772-780.
37. Okatan EN, Tuncay E, Hafez G, et al. Profiling of cardiac  $\beta$ -adrenoceptor subtypes in the cardiac left ventricle of rats with metabolic syndrome: Comparison with streptozotocin-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93:517-525.
38. Aguilera AA, Díaz GH, Barcelata ML, et al. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- $\alpha$  in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2004;15:350-357.
39. Yaras N, Ugur M, Ozdemir S, et al. Effects of diabetes on ryanodine receptor Ca release channel (RyR2) and Ca<sup>2+</sup> homeostasis in rat heart. *Diabetes*. 2005;54:3082-3088.
40. Ozdemir S, Ugur M, Gürdal H, et al. Treatment with AT(1) receptor blocker restores diabetes-induced alterations in intracellular Ca(2+) transients and contractile function of rat myocardium. *Arch Biochem Biophys*. 2005;435:166-174.
41. Olgar Y, Tuncay E, Degirmenci S, et al. Ageing-associated increase in SGLT2 disrupts mitochondrial/sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> homeostasis and promotes cardiac dysfunction. *J Cell Mol Med*. 2020;24:8567-8578.
42. Degirmenci S, Olgar Y, Durak A, et al. Cytosolic increased labile Zn<sup>2+</sup> contributes to arrhythmogenic action potentials in left ventricular cardiomyocytes through protein thiol oxidation and cellular ATP depletion. *J Trace Elem Med Biol*. 2018;48:202-212.
43. Chang GJ, Wu MH, Wu YC, et al. Electrophysiological mechanisms for antiarrhythmic efficacy and positive inotropy of liriodenine, a natural aporphine alkaloid from *Fissistigma glaucescens*. *Br J Pharmacol*. 1996;118:1571-1583.
44. van der Heyden MA, Wijnhoven TJ, Opthof T. Molecular aspects of adrenergic modulation of cardiac L-type Ca<sup>2+</sup> channels. *Cardiovasc Res*. 2005;65:28-39.
45. Song YJ, Dong PS, Wang HL, et al. Regulatory functions of docosahexaenoic acid on ion channels in rat ventricular myocytes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17:2632-2638.
46. Durak A, Bitirim CV, Turan B. Titin and CK2 $\alpha$  are New Intracellular Targets in Acute Insulin Application-Associated Benefits on Electrophysiological Parameters of Left Ventricular Cardiomyocytes From Insulin-Resistant Metabolic Syndrome Rats. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2020;34:487-501.
47. Chang GJ, Yeh YH, Lin TP, et al. Electromechanical and atrial and ventricular antiarrhythmic actions of CIJ-3-2F, a novel benzyl-furoquinoline vasodilator in rat heart. *Br J Pharmacol*. 2014;171:3918-3937.
48. Ernest D, Gershenson A, Corallo CE, et al. Sibutramine-associated QT interval prolongation and cardiac arrest. *Ann Pharmacother*. 2008;42:1514-1517.
49. Chang GJ, Su MJ, Hung LM, et al. Cardiac electrophysiologic and antiarrhythmic actions of a pavine alkaloid derivative, O-methyl-neocaryachine, in rat heart. *Br J Pharmacol*. 2002;136:459-471.
50. Skarsfeldt MA, Carstensen H, Skibbye L, et al. Pharmacological inhibition of IK1 by PA-6 in isolated rat hearts affects ventricular repolarization and refractoriness. *Physiol Rep*. 2016;4:12734.
51. Tziomalos K, Krassas GE, Tzotzas T. The use of sibutramine in the management of obesity and related disorders: an update. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:441-452.
52. Bunya N, Sawamoto K, Uemura S, et al. Cardiac arrest caused by sibutramine obtained over the Internet: a case of a young woman without pre-existing cardiovascular disease successfully resuscitated using extracorporeal membrane oxygenation. *Acute Med Surg*. 2017;4:334-337.
53. Kim KS, Kim EJ, Lee HA, et al. Effect of sibutramine HCl on cardiac hERG K<sup>+</sup> channel. *Mol Cell Biochem*. 2009;320:125-131.
54. Ding L, Hao X, Huang X, et al. Simultaneous determination of sibutramine and its N-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry: Method and clinical applications. *Analytica Chimica Acta*. 2003;492:241-248.
55. Jain DS, Subbaiah G, Sanyal M, et al. Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry validated method for the simultaneous quantification of sibutramine and its primary and secondary amine metabolites in human plasma and its application to a bioequivalence study. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2006;20:3509-3521.
56. Kokaçya MH, Şahpolat M, Kurhan F. Sibutramin içeren reçetesiz zayıflama ürününün indüklediği ilk manik hecme. 2014;4:126-129.
57. Luscombe GP, Hopcroft RH, Thomas PC, et al. The contribution of metabolites to the rapid and potent down-regulation of rat cortical beta-adrenoceptors by the putative antidepressant sibutramine hydrochloride. *Neuropharmacology*. 1989;28:129-134.
58. Florentin M, Liberopoulos EN, Elisaf MS. Sibutramine-associated adverse effects: a practical guide for its safe use. *Obes Rev*. 2008;9:378-387.
59. Waszkiewicz N, Zalewska-Szajda B, Szajda SD, et al. Sibutramine-induced mania as the first manifestation of bipolar disorder. *BMC Psychiatry*. 2012;12:43.
60. James WP, Caterson ID, Coutinho W, et al. Effect of sibutramine on cardiovascular outcomes in overweight and obese subjects. *N Engl J Med*. 2010;363:905-917.
61. Scheen AJ. Sibutramine on cardiovascular outcome. *Diabetes Care*. 2011;34(Suppl 2):114-119.
62. Scheen AJ. Cardiovascular risk-benefit profile of sibutramine. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2010;10:321-334.
63. Cercato C, Fonseca FA. Cardiovascular risk and obesity. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11:74.
64. Nathan PJ, O'Neill BV, Napolitano A, et al. Neuropsychiatric adverse effects of centrally acting antiobesity drugs. *CNS Neurosci Ther*. 2011;17:490-505.
65. T.C. Sağlık Bakanlığı Reductil (Sibutramin) hakkında, Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü 22.01.2010 tarih 006064 sayılı yazısı.