МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

д-р Калина Николаева Колева

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ И РЕГУЛАТОРНИ ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ АНТИДЕПРЕСАНТИ И ОПИОИДИ, ПРЕДИЗВИКВАЩИ СЕРОТОНИНОВ СИНДРОМ

Дисертационен труд за придобиване
на образователната и научна степен
“ДОКТОР”

Научен ръководител:
Доц. д-р Румен Павлов Николов, дм

Научен консултант:
Чл. кор. проф. д-р Мила Василева Власковска, дм, дмн

София
2021

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ 4
I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР 6
Въведение 6
Синтез и роля на серотонин 7
Механизъм на развитие на серотонинов синдром 10
Антидепресанти и опиоиди 17
Клинична картина на серотонинов синдром 23
Диагностика на серотонинов синдром 27
Диференциална диагноза 31
Фармакологични подходи за повлияване на хипертермията при серотонинов синдром 35
Превенция на серотонинов синдром и регулаторни проблеми 39
Прояви на серотонинов синдром при животни 40
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ 44
Цел 44
Задачи 44
III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 46
Материали 46
1. Експериментални животни 46
2. Фармакологични вещества 46
2.1. Вещества, използвани за моделиране на експериментален серотонинов синдром 46
2.2. Вещества използвани за повлияване на серотонинов синдром 46
Методи 48
1. *In vivo* методи 48
1.1. Експериментални модели на серотонинов синдром 48
1.2. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром 49
1.3. Мониториране на телесната температура 49
2. Определяне на концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA по методология, предложена от производителя на кита 50
3. Статистически анализ 50
4. Систематичен литературен преглед 50
IV. РЕЗУЛТАТИ 52

1. Резултати от *in vivo* опити 52
1.1. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром 52
1.2. Промяна в телесната температура при експериментални модели на серотонинов синдром и нейното фармакологично повлияване 54
1.2.1. Хипертермия индуцирана от комбинираното приложение на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие 54
1.2.2. Повлияване на хипертермичната реакция от ГАМК-ергични вещества. 58
Ефект на *diazepam*: 58
Ефект на *vigabatrin*: 59
1.2.3. Повлияване на хипертермичната реакция от 5-НТ-рецепторни антагонисти 60
Ефект на *cyproheptadine*: 60
Ефект на *propranolol*: 60
Ефект на *asenapine*: 61
Ефект на *olanzapine*: 62
Ефект на *risperidone*: 63
Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром: 64
2. Концентрация на серотонин в кръвен серум на плъхове с модел на серотонинов синдром 65
3. Регулаторни проблеми при някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром 66
Антидепресанти 66
Опиоиди 68
V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ 72
VI. ИЗВОДИ 86
VII. ПРИНОСИ 87
VIII. ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 89
IX. УЧАСТИЯ В НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ КОНГРЕСИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 90
БИБЛИОГРАФИЯ 91

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БАБХ	Българска Агенция по Безопасност на Храните
ГАМК	гама-аминомаслена киселина
ГИТ	гастроинтестиналния тракт
ДД	диференциална диагноза
ДИК	дисеминирана интравазална коагулация
ДМС	дълбока мозъчна стимулация
ЕС	Европейски съюз
ИАЛ	Изпълнителна агенция по лекарствата
КЕНИМУС	Комисия по Етика на Научните изследвания при Медицински Университет
КК	клинична картина
КХП	Кратка характеристика на продукта
ЛП	Листовка за пациента
МАО	моноаминооксидаза
МНС	малигнен невролептичен синдром
МХ	малигнена хипертермия
НЛР	нежелана лекарствена реакция
ПДБ	периодични доклади за безопасност
ПРУ	Притежател на разрешение за употреба
РУ	Разрешение за употреба
САЩ	Съединени американски щати
СЗО	Световна здравна организация
ТЦА	трициклични антидепресанти
ФД	Фармакодинамика
ФК	Фармакокинетика

5-HT	5-hydroxytryptamine
5-HTP	5-hydroxytryptophan
CAPs	centrally authorised products
CYP 450	Cytochrome P_{450}
DCP	Decentralised procedure
DSC	Drug Safety Communication
EMA	European Medicines Agency
EV	EudraVigilance
FAERS	FDA Adverse Event Reporting System
FDA	Food and Drug Administration
MARTA	multi-acting receptor-targeted antipsychotics
NMDA	N-methyl-D-aspartate
OTC	Over-the-counter
PDCO	Paediatric Committee
P-gp	P-glycoprotein
PGWP	Pharmacogenomics Working Party
PRAC	Pharmacovigilance Risk Assessment Committee
PSUSA	Periodic Safety Update Report (PSUR) single assessment
SDA	serotonin-dopamine antagonist
SERT	serotonin transporter
SNRIs	Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors
SSRIs	Selective serotonin reuptake inhibitors
$t_{1/2}$	плазмен полуживот

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Въведение

Серотониновият синдром е лекарствено-индуцирано състояние, причинено от медикаменти и вещества, които повишават интрасинаптичните нива на серотонин (серотонинергични). Характеризира се с триада от симптоми, включващи промени менталния статус, автономна нестабилност и невромускулна хиперреактивност.

Oates и Sjostrand за първи път описват синдрома през 1960г. („indolamine syndrome") при пациенти на терапия с моноаминоокасидазни инхибитори (МАО-инхибитори), които развиват симптоми на серотонинов синдром след прием на триптофан – серотонинов прекурсор. [1] Оттогава броят на докладваните случаи на серотонинов синдром се увеличава.

Сред всички серотонинергични медикаменти, антидепресантите са най-честите причинители на серотонинов синдром, а последните данни сочат, че най-честата лекарствена комбинация асоциирана със серотонинов синдром е тази между **SSRIs** (Селективни инхибитори на обратното захващане на серотонин) и **опиоидни аналгетици.** [2] Вниманието на медицинската общност към серотониновия синдром е привлечено през 1984 г. от необичайната смърт на 18-годишното момиче Либи Зион в болница на Ню Йорк Сити, която вероятно е свързана с развитието на серотонинов синдром след едновременното приложение на МАО-инхибитор и опиоиден аналгетик. На момичето, страдащо от депресия и приемащо по предписание антидепресанта *phenelzine* е бил приложен опиоидния аналгетик *meperidine (pethidine – INN),* което е довело до развитетио на серотонинов синдром с фатален край. [3]

Епидемиология

Като относително рядко срещана нежелана лекарствена реакция, честота на серотонинов синдром трудно може да бъде изчислена по време на рандомизирани контролирани проучвания. [4] Още повече, счита се че над 85% от лекарите не са запознати със състоянието. [5] Неспицифичната изява на синдрома води до трудното му разпознаване и недокладване, което допълнително затруднява определянето на неговата честота. Според Isbister серотонинов синдром се

наблюдава при 15% от пациентите, които предозират селективни инхибитори на обратното захващане на серотонин.

Въпреки това, честота на серотонинов синдром в последните години нараства, вероятно отразяваща повишената употреба на серотонинергични медикаменти в практиката, по-доброто му познаване и диагностициране. Счита се, че реалната честота на серотонинов синдром надвишава значително докладваната. Серотонинов синдром е документиран във всички възрастови групи. [6, 7, 8]

Синтез и роля на серотонин

През 1948 г. Rapport et al. изолират 5-хидрокситриптамин (5-HT) от серум и показват, че именно той е отговорен за наблюдаваните преди това вазоконстриктивните свойства на серума Така, 5-хидрокситриптамин получава другото си име – серотонин. [9, 10]

По-рано, през 1937 г. Erspamer изолира 5-хидрокситриптамин от ентерохромафинните клетки на червата показвайки, че той контрахира чревната тъкан и поради това го нарича ентерамин, без да знае, че това е същата молекула. [11] По-късно се разкрива, че двете вещества серотонин и ентерамин са в действителност една и същата молекула – 5-хидрокситриптамин, която запазва името си серотонин. [12] В последствие странична група учени открива, че серотонинът присъства и в мозъка и оттогава нататък, серотонинът се възприема като невротрансмитер. [13

Серотонинът се синтезира от незаменимата аминокиселина L-триптофан. Под действието на ензима триптофан хидроксилаза L-триптофан се превръща в 5-хидрокситриптофан (5-HTP), което е скорост-определяща реакция в синтезата на невромедиатора. На следващ етап, 5-хидрокситриптофан се декарбокислира до 5-хидрокситриптамин (5-HT) – серотонин, под действието на неспецифична ароматна L-аминокиселинна декарбоксилаза. Синтезираният серотонин се депонира във везикули и се освобождава в синаптичната цепка при стимул. Попадналият в синаптичната цепка серотонин взаимодейства със съответните рецептори, метаболизра се или се захваща и връща обратно в пресинаптичното пространство от специфичен серотонинов транспортер (SERT). [14]

Метаболизирането на 5-НТ протича в два етапа, като основна роля играе ензимът моноаминоксидаза (МАО), участващ в метаболизма на редица невротрансмитери като норадреналин, адреналин, допамин, тирамин и др. МАО съществува в две изоформи, МАО-А и МАО-В, които се различават с своята субстратна специфичност и чувствителност към определени инхибитори. Така например, МАО-А проявява по-висок афинитет към серотонина отколкото МАО-В. От друга страна, имунохистохимични изследвания предполагат, че серотонинергичните неврони съдържат само МАО-В. [15] Под действието на МАО, 5-НТ се разгражда до 5-хидроксииндол ацеталдехид, който бързо се превръща в 5-хидроксииндолоцетна киселина (5-HIAA) чрез окисляване от алдехиддехидрогеназа. В алтернативен, по-малко значим, метаболитен път, алдехидът се подлага на редукция от алдехидредуктаза до 5-хидрокситриптофан. Основният метаболит е 5-HIAA и неговото количество в урината служи като маркер за определяне на нивата на серотонин в организма. [14]

Серотонинът е биогенен амин с централно и периферно действие опосредствано от седем семейства серотонинови рецептори от 5-HT_1 до 5-HT_7 (таблица 1). Някои от тези рецептори имат множество членове (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}). [7, 16–24] Всички серотонинови рецептори са метаботропни (G-протеин свързани), с изключение на 5-HT_3, които са йонотропни. [25–27] По отношение на вторичните посредници, семейството на 5-HT_1 инхибира аденилат циклазата, докато семейството на 5-HT_2 активира фосфолипаза С. Всички рецептори присъстват в ЦНС, докато подтиповете 1С, 2, 3 и 4 са идентифицирани и в гастроинтестиналния тракт (ГИТ). [26] В ЦНС серотонинергичните неврони са локализирани основно в nucleus raphe на мозъчния ствол, където оказват влияние върху регулирането на множество функции като настроение, сексуално поведение, внимание, апетит, повръщане, терморегулация, усет за болка и мускулен тонус. В периферията серотонинът, който се синтезира основно в ентерохромафинните клетки на ГИТ, подпомага стомашночревния мотилитет и съдовия тонус. [7]

Таблица 1. Серотонинови рецептори – видове, локализация и функция [26, 27]

Рецептор		Тип	Локализация	Функция
Вид	**Подвид**			
5-HT$_1$	**5-HT$_{1A}$**	G_i	nucleus raphe, hippocampus	регулация на сън и хранене; тревожност
	5-HT$_{1B}$	G_i	substantia nigra, globus pallidus, базални ганглии	поведенчески прояви
	5-HT$_{1D}$	G_i	кръвоносни съдове в ЦНС	вазоконстрикция
	5-HT$_{1E}$	G_i	cortex, hippocampus	памет
5-HT$_2$	**5-HT$_{2A}$**	G_q	гладка мускулатура, тромбоцити	контракция на мускулатурата
	5-HT$_{2B}$	G_q	стомах	апетит
	5-HT$_{2C}$	G_q	hippocampus, substantia nigra	тревожност
5-HT$_3$	**—**	йонен канал	area postrema, ентерална нервна система	повръщане
5-HT$_4$	**—**	G_s	cortex, гладка мускулатура	повишен мотилитет на ГИТ
5-HT$_5$	**5-HT$_{5A/B}$**	G_i	ЦНС	локомоция, сън
5-HT$_6$	**—**	G_s	ЦНС	когниция, обучение
5-HT$_7$	**—**	G_s	ЦНС	неизвестни

Механизъм на развитие на серотонинов синдром

Серотониновият синдром е резултат от повишаване на интрасинаптичните нива на серотонин, причинено от свръхстимулация както на централните, така и на периферните серотонинови рецептори. [28, 29] Теоретично серотонинов синдром може да възникне в резултат от стимулиране на кой да е рецептор от всичките седем семейства серотонинови рецептори [30]. Въпреки това, най-често се споменава ролята на 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A}. [6, 7, 30, 31] Още повече, счита се, че 5-HT_{2A} медиират най-сериозните последствия на серотонинов синдром (таблица 2).

Таблица 2. Серотонинови рецептори асоциирани с развитието на серотонинов синдром [29, 30, 31]

Рецептор		**Функция свързана със серотониновата токсичност**
Вид	**Подвид**	
5-HT_1	**5-HT_{1A}**	невронална инхибиция, терморегулация, хиперактивност асоциирана с тревожност, хипоактивност асоциирана с депресия
	5-HT_{1D}	локомоция, мускулен тонус
5-HT_2	**5-HT_{2A}**	невронално възбуждане, вазоконстрикция, тромбоцитна агрегация
	5-HT_{2B}	гладкомускулна контракция
5-HT_3	**—**	гадене и повръщане
5-HT_4	**—**	повишен мотилитет на ГИТ

Някои автори предполагат, че за развитието на серотонинов синдром е необходимо натрупването на критична стойност серотонин. Въпреки това, проучвания показват, че тази стойност вероятно е различна за всеки пациент. Експериментални изследвания при животински модели на серотонинов синдром показват, че други невромедиатори като норадреналин (НА), N-метил-D-аспартат (NMDA), гама-

аминомаслена киселина (ГАМК) и допамин също могат да играят роля в развитието на серотонинов синдром, но ролята им не е напълно изяснена. [6, 32]

Изследвания сочат, че при серотонинов синдром нивата на серотонин в ЦНС се покачват между 40 и 140 пъти. Същевремено нивата на допамин се увличават с 10 до 44 пъти. [33, 34]

Проучванията сочат още, че при серотонинов синдром се отчита свърхактивиране на норадренергична система с покачване на нивата на норадреналин до 15.9 пъти, но причината остава неизвестна. Други изследвания посочват ролята на 5-HT_{2A} рецепторите и тяхното активиране от лекарства агонисти в увеличващите се нива на НА. Това се подкрепя от факта, че при предварителното приложение на ritanserin и pipamperone (антагонсити на същите рецептори) не се наблюдава значимо покачване на НА. От другата страна, съществуват данни за участие на 5-HT_{1A} рецепторите, въпреки че приложението на 5-HT_{1A} антагонисти не превентира покачването на норадреналиновите нива. [33, 34]

Степента на покачване на нивата на НА може да бъде свързана с прогнозата при серотонинов синдром, въпреки че тя не е напълно изяснена. Същевременно някои от наблюдаваните сиптоми на автономна нестабилност може да се дължат и на свръхактивираната норадренергична система. [33]

Възможните механизми за индивидуална вариабилност и склонност за развитие на серотонинов синдром включват генетични разлики в SERT гена (серотонинов транспортер), полиморфизми на CYP2D6 или на 5-HT_{2A} и 5-HT_{3B} рецепторите. [6] Изглежда, че някои индивиди с известни полиморфизми за мястото на T102C на 5-HT_{2A} рецепторния ген могат да бъде предразположени към развитие на серотонинов синдром. [28, 35]

Предполага се също, че индивидуални вариации в активността на CYP 450 допринасят за повишена предразположеност към развитие на серотонинов синдром. [22, 36–39] Случай на серотонинов синдром е описан при пациент, който приема *paroxetine* в отсъствието на други известни серотонинергични лекарства. [37] Въпреки че, *paroxetine* е SSRI, който рядко причинява серотонинов синдром приложен самостоятелно, при пациента е установен полиморфизъм за алел на CYP2D6, който може да е нарушил метаболизма на лекарството, с което е допринесъл за развитието на серотонинов синдром. [37] Подобен случай е описан

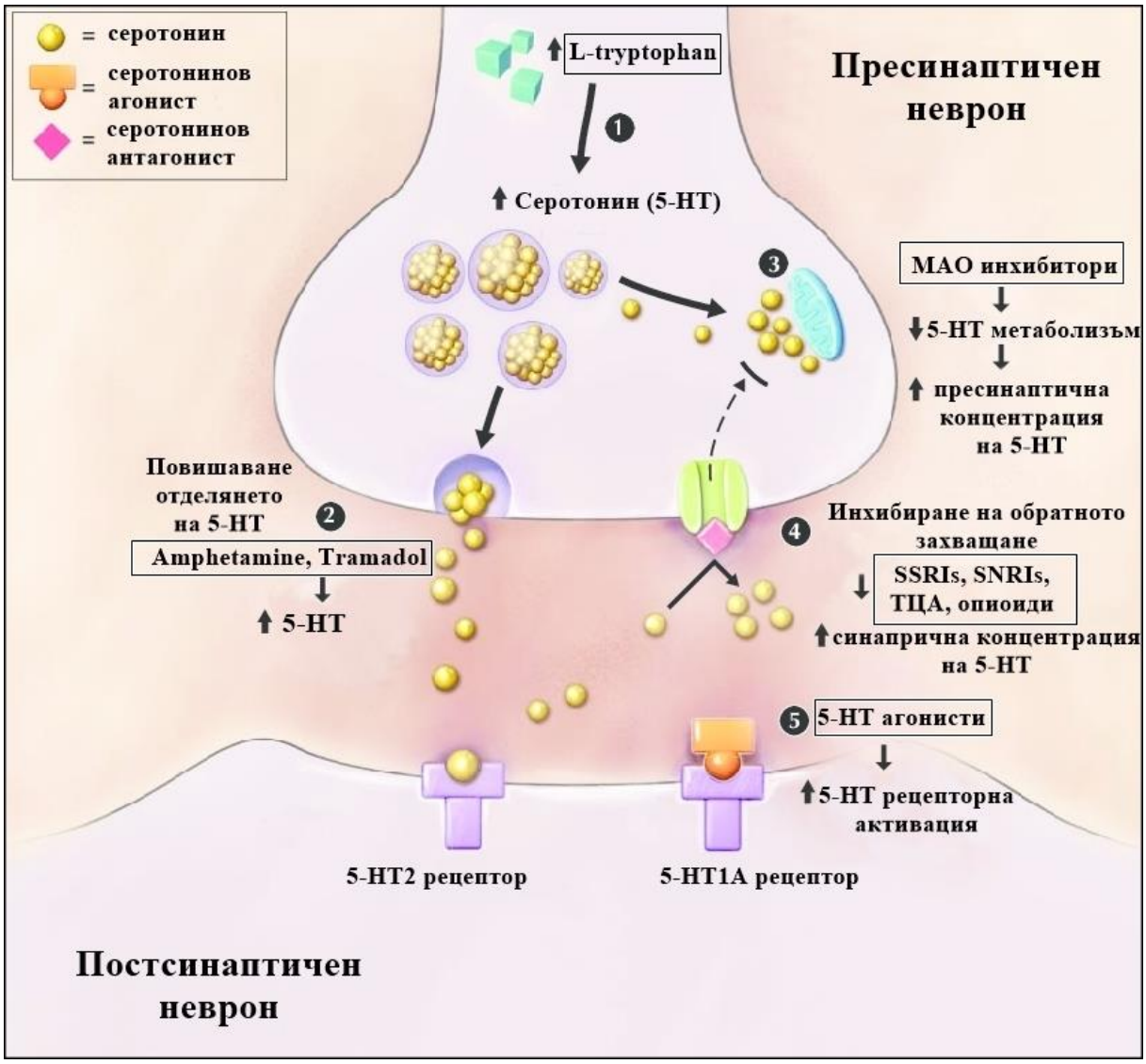
при пациент на терапия с *fluoxetine*, за когото е установено в последствие, че е с нефункциониращ генотип CYP2D6, както и че хетерозигот за алел на CYP2C19, водещо до лоша метаболизираща способност. [38]

Значението на CYP 450 полиморфизмите за развитието на серотонинов синдром допълнително се подчертава, като се има предвид множеството лекарства индуктори и инхибитори използвани в ежедневната медицинска практика, които допълнително повлияват активността на ензимната система. Така например, случай на серотонинов синдром е описан при ХИВ-инфектиран пациент на терапия с антиретровирусни лекарства, които са известни инхибитори на CYP2C19 и CYP3A4. Впоследствие за пациента е с установено и, че е с CYP2D6 генетичен полиморфизъм водещ до лоша метаболизираща способност. [40]

От друга страна, функционалността на SERT има съществено значение за определяне на интрасинаптичната концентрация на серотонин. Експериментални изследвания показват, че промени в гена за SERT могат частично да обяснят склонността на някои хора към развитие на серотонинов синдром. [22, 39] Fox et al. показват, че при SERT нокаут мишки (SERT -/-) третирани със серотонинергични лекарства, се наблюдава поведение подобно на това при серотонинов синдром. Някои от тези мишки показват подобно поведение дори и без прилагането на серотониновия прекурсор 5-HTP. Това важи и за мишки, хетерозиготни за гена (SERT +/-). Тези резултати могат да бъдат от значение и за клиничната практика имайки предвид, че SERT генетични полиморфизми са описани и при хора [40], което в някои случаи може да намали функцията на транспортера с до 50% от нормата.

Медикаменти и вещества, които повишават нивата на серотонин се наричат **серотонергични**, а механизмите, чрез които го осъществяват са следните (Фигура 1):

- Повишен синтез на серотонин
- Повишено освобождаване на серотонин
- Активиране на серотонинергичните рецептори
- Инхибиране на обратното захващане (реъптейк) на серотонин
- Инхибиране на разграждането на серотонин



Фигура 1. Възможни механизми за развитие на серотонинов синдром (Модификация по Birmes, P. et al., *Serotonin syndrome: a brief review*) [41]

Пълният списък на серотонинергичните вещества е дълъг, но централно място заемат антидепресантите, а в последните години и някои опиоиди. Докладваните антидепресанти и опиоиди причиняващи серотонинов синдром, както и механизмите, чрез които повишават нивата на серотонин са посочини съответно на таблица 3 и таблица 4. Важно е да се отбележи, че към веществата притежаващи серотонинергична активност, се отнасят не само антидепресанти и опиоиди, но и редица други лекарства използвани в ежедневната медицинска практика – някои антибиотици, антиеметици, както и лекарства изписвани без рецепта (over-the-counter drugs, OTC), хранителни добавки, някои наркотични вещества и др. [42–45]

В таблица 5 са изброени докладвани в литературата групи лекарства и техните представители асоциирани с появата на серотонинов синдром.

Таблица 3. Антидепресанти причиняващи серотонинов синдром и механизми, чрез които повишават нивата на серотонин [4, 6–8, 31, 46–61]

Механизъм	**Представители**
Инхибиране на разграждането на серотонин	**<u>МАО-инхибитори</u>**: *tranylcypromine, phenelzine, isocarboxazid, nialamid, iproniazid, pargyline, clorgiline, moclobemide, toloxatone*
Повишено освобождаване на серотонин	*mirtazapine*
Инхибиране на обратното захващане на серотонин	**<u>SSRIs:</u>** *paroxetine, sertraline, fluoxetine, fluvoxamine, citalopram, escitalopram*
	<u>SNRIs:</u> *venlafaxine, desvenlafaxine, duloxetine, milnacipran*
	<u>ТЦА:</u> *imipramine, clomipramine, desipramine, doxepin, amitriptyline, amoxapine, maprotiline, nortriptyline, protriptyline, trimipramine*
	bupropion, nefazodone, trazodone
Активиране на серотонинергичните рецептори	*mirtazapine, trazodone*

МАО – моноаминооксидаза; SSRIs – Селективни инхибитори на обратното захващане на серотонин; SNRIs – Инхибитори на обратното захващане на серотонин и норадреналин; ТЦА – трициклични антидепресанти

Таблица 4. Опиоиди, причиняващи серотонинов синдром и механизми, чрез които повишават нивата на серотонин [4, 6–8, 31, 62–90]

Механизъм	**Представители**
Повишено освобождаване на серотонин	*tramadol, pethidine (meperidine), oxycodone*
Инхибиране на обратното захващане на серотонин	*tramadol, pethidine (meperidine), tapentadol, levomethorphan, levorphanol, methadone, pentazocine, dextropropoxyphen, fentanyl, remifentanyl*
Активиране на серотонинергичните рецептори	*pethidine (meperidine), fentanyl*

Таблица 5. Докладвани в литературата лекарства асоциирани с появата на серотонинов синдром [4, 6–8, 31, 43–45, 62–90]

Група	**Представители**
Анксиолитици	*buspirone*
Антибиотици	*linezolid*
Антиеметици (сетрони)	*granisetron, ondansetron*
Антимигренозни средства (триптани)	*almotriptan, eletriptan, frovatriptan, naratriptan, rizatriptan, sumatriptan, zolmitriptan*
Антипаркинсонови средства	*selegiline*
Антихистамини	*chlorpheniramine*
Атипични антипсихотици	*quetiapine, risperidone, olanzapine, aripiprazole, ziprasidone, clozapine, lurasidone, asenapine, paliperidone*
Наркотични вещества	*cocaine, MDMA (‘‘Ecstasy’’), LSD*
OTC - лекарства	*dextromethorphan*
Прокинетици	*metoclopramide*
Растителни добавки	*жълт кантарион (Hypericum perforatum)*
Средства за понижаване на апетита	*phentermine*
Стабилизатори на настроението	*lithium*
Хранителни добавки	*5-hydroxy-L-tryptophan*

Комбинацията на кои да е две или повече вещества, увеличаващи нивата на серотонин, крие риск от развитието на серотонинов синдром. Въпреки че много антидепресанти могат да предизвикат серотонинов синдром при самостоятелно прилагане, повечето случаи на серотонинов синдром възникват, когато антидепресантите се комбинират с други серотонергични лекарства. Докладваните лекарствени взаимодействия продължават да се увеличават и могат да възникнат, както на фармакодинамично (ФД), така и на фармакокинетично (ФК) ниво [6, 7].

Анализ на регистрираните случаи на серотонинов синдром (само тези покриващи критериите на Sternbach, Radomski или Hunter, n=125) във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност (т. нар. фармаковижиланс) показва, че 84.0% (n=105) от случаите на серотонинов синдром са асоциирани със скорошна промяна в терапията със серотонинергичен медикамент (въвеждането на такъв, увеличаване на дозата или предозиране). В 39.2% (n = 49) от случаите, серотонинов синдром възниква при започване на терапия със серотонинергичен медикамент у пациент неполучаващ такъв до този момент. При приблизително 1/4 от случаите (25,6%, n = 32), серотонинов синдром се развива след добавянето на серотонергичен медикамент към друг такъв, водещо до възникване на лекарствени взаимодействия. В 22 (17.6%) от случаите серотонинов синдром се развива след повишаване на дозата, а в 13 (10.4%) случая – след предозиране на серотонергично лекарство. [2, 91–96]

Антидепресанти и опиоиди

Сред всички серотонинергични медикаменти, антидепресантите са най-честите причинители на серотонинов синдром. Сред тях, като най-често причиняващи серотонинов синдром се съобщават **SSRIs** (42.1%), в по-малка степен **SNRIs** (9,1%, главно *venlafaxine*), **трицикличните антидепресанти** (8,6%, главно *clomipramine*) и някои **МАО-инхибитори** (6,2%, главно *moclobemide*). [2, 91–96]

Анализът на регистрираните случаи на серотонинов синдром във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност показва още, че повечето случаи на серотонинов синдром (59,2%, n = 74) са резултат от взаимодействия на фармакодинамично ниво. Най-често срещаните лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром са **SSRIs** – **опиоиден аналгетик**

(предимно *paroxetine* + *tramadol*) и **SSRIs** – **МАО-инхибитор** (предимно *paroxetine* + *moclobemide*) и са посочени на таблица 6. [2, 91–96]

Таблица 6. Най-често срещани лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром [2, 91–96]

Лекарствена комбинация	**Брой случаи (n)**	**Процент (%)**
SSRIs – опиоиден аналгетик	**15**	**20.3**
SSRIs – МАО-инхибитор	12	16.2
SSRIs – imipramine	4	5.4
Imipramine – lithium	4	5.4
МАО-инхибитор – опиоиден аналгетик	4	5.4
SSRIs – амфетамин	3	4.1
SSRIs – lithium	3	4.1

* Анализът не посочва данни за лекарствени комбинации срещащи се в по-малко от 3 случая

МАО-инхибиторите използвани повече в миналото се асоциират в най-висока степен с развитието на животозастрашаващите форми на серотонинов синдром. Най-често те възникват, когато МАО-инхибитор се комбинира с SSRIs или ТЦА. Данни сочат, че 50% от пациентите приемащи обратимия МАО-инхибитор *moclobemide* в комбинация с друг серотонинергичен медикамент развиват серотонинов синдром, дори и вторият медикамент да бъде приложен в терапевтични дози. [2, 6, 31] Самостоятелната употреба на необратимия МАО-инхибитор *tranylcypromine* в доза по-висока от терапевтичната, също може да предизвика серотонинов синдром. За разлика от него обратимият МАО-инхибитор *moclobemide* използван самостоятелно, не се асоциира с развитие на серотонинов синдром, дори при приложение на дози по-виоски от терапевтичните. При докладваните животозастрашаващи случаи на серотонинов синдром включващи комбинацията от МАО-инхибитор и ТЦА, най-често въвлечените ТЦА са били *clomipramine* и *imipramine*. [31]

По-рядкото докладване на МАО-инхибиторите във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност [2] вероятно е отражение на тяхната ограничена употреба в днешно време.

От същото проучването е видимо, че най-честата комбинация водеща до серотонинов синдром е между **SSRIs** и **опиоидни аналгетици**. Все по-често се коментира ролята на опиоидите за развитието на серотонинов синдром, а това се обяснява с действието на по-голямата част от тях като инхибитори на обратното захващане на серотонина [68–86]. Такива са *tramadol, pethidine (meperidine), tapentadol, levomethorphan, levorphanol, methadone, pentazocine, dextropropoxyphen, fentanyl u remifentanyl*.

Fentanyl е синтетичен фенилпиперидинов опиоид, който освен като агонист на опиоидните рецептори, действа и като 5-HT_{1A} агонист, което води до увеличено освобождаване на серотонин. Освен това, той действа в известна степен и върху обратното захващане на 5-НТ, с което допълнително увеличава интрасинаптичните нива на серотонин. Няма докладвани случаи на предизвикан серотонинов синдром след самостоятелното приложение на *fentanyl*, такъв е документиран, когато *fentanyl* е комбиниран със *SSRI* или друг серотонинергичен медикамент.

Oxycodone е морфинов аналог, чиято употреба също се асоциира с риск от развитие на серотонинов синдром. За разлика от повечето опиоди, той няма действие върху обратното захващане на серотонин. Счита се, че *oxycodone* стимулира отделянето на серотонин, но механизмът му на действие остава неизяснен. [68–86]

Methadone е синтетичен пиперидинов опиоид, рацемична смес от R и S енантиомер. Той упражнява аналгетичното си действие посредством R-енантиомера и NMDA-агонистично действие посредством S-енантиомера. *In vitro* изследвания показват по-голяма тенденция на *methadone* за инхибиране на обратното захващане на серотонин в сравнение с други опиоиди, което може да обясни докладваните случаи на серотонинов синдром с негово участие. [68–86]

Сред всички докладвани опиоиди причиняващи серотонинов синдром, най-много данни има за участието на *tramadol*. Предполага се, че той може да има и допълнителен механизъм на действие като стимулира освобождаването на серотонин. *Tramadol* представлява рацемична смес от R и S енантиомер. R-

енантиомерът е μ-рецепторен агонист, докато за S-енантиомера се счита, че инхибира обратното захващане на норадреналин и стимулира освобождаването на серотонин. [2, 6, 91–106]

Данните на френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност сочат още, че 1/5 от случаите (20,8%, n = 26) на серотонинов синдром могат да бъдат резултат от значими фармакокинетични взаимодействия включващи инхибитори на CYP 2D6 (n = 14) и P-gp (n = 12). В анализираните случаи най-често срещаните мощни инхибитори сред серотонинергичните медикаменти са *paroxetine* и *moclobemide*, а сред несеротоинергичните: *haloperidol, amiodarone* и *omeprazole* (таблица 7.1. и таблица 7.2.)

Таблица 7.1. Фармакокинетични взаимодействия водещи до развитието на серотонинов синдром [2]

Серотонинергичен инхибитор	**Субстрат**	**CYP 450 или P-gp**
Clomipramine	Fluvoxamine	CYP 2D6
Duloxetine	Citalopram Methadone	P-gp
Fluoxetine	Amitriptyline	P-gp
Fluvoxamine	Citalopram Clomipramine	CYP 2C19 CYP 1A2
Methadone	Citalopram	P-gp
Metoclopramide	Paroxetine	CYP 2D6
Moclobemide	Paroxetine Clomipramine	CYP 2D6
Paroxetine	Amitriptyline Citalopram Fentanyl Venlafaxine	P-gp

Таблица 7.2. Фармакокинетични взаимодействия водещи до до развитието на серотонинов синдром [2]

Несеротонинергичен инхибитор	**Субстрат**	**CYP 450 или P-gp**
Amiodarone	Citalopram Fluoxetine Mianserine	CYP 3A4 + P-gp CYP 2C9 CYP 2D6
Esomeprazole	Citalopram	CYP 2C19
Haloperidol	Paroxetine Fluvoxamine Clomipramine Citalopram	CYP 2D6 P-gp
Omeprazole	Amitriptyline Moclobemide	CYP 2C19
Risperidone	Duloxetine Mianserine	CYP 2D6
Verapamil	Venlafaxine	P-gp

Друго проучване посочващо връзката между **атипичните антипсихотици** и развитието на серотонинов синдром показва, че атипичните антипсихотици водят по-често до развитието на серотонинов синдром, когато са комбинирани със SSRIs, отколкото използвани самостоятелно. [30]

Въпреки множеството примери и схващането, че серотонинов синдром се развива най-често на базата комбиниране на няколко серотонинергични медикамента, анализът на френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност показва, че в значителен брой от случаите (40,8%, n=51) серотонинов синдром

възниква в резултат от употребата само на един серотонинергичен медикамент и то в терапевтични дози. Най-често това са **SSRIs** (основно *fluoxetine*, 29.4%, n=15) или *venlafaxine* (15.7%, n=8). [2, 107–109] Сред всички **SNRIs**, *venlafaxine* се асоциира в най-висока степен с развитието на серотонинов синдром. Някои данни сочат, че честотата му превишава дори тази на SSRIs. Подобно на *tramadol*, *venlafaxine* вероятно има и допълнителен механизъм на действие като стимулира освобождаването на серотонин. [31]

Други описани антидепресанти чиято самостоятелна употреба е докладвана за развитието на серотонинов синдром са: *citalopram* (9.8%, n=5), *paroxetine* (9.8%, n=5), *escitalopram* (9.8%, n=5), *sertraline* (7.8%, n=4), *clomipramine* (5.9%, n=3) и *fluvoxamine* (2.0%, n=1). Предозиране на серотонинергичнен медикамент е установено само в 4 (7.8%) от тези 51 случая. Още повече, по-голямата част от тези случаи (68.6%, n = 35) са на тежки форми на серотонинов синдром включващи 34 хоспитализации и 1 животозастрашаващ случай. [2]

От казаното следва, че забележителен брой медикаменти могат да участват в развитието на серотонинов синдром, но въпреки това антидепресантите и опиоидните аналгетици заемат централно място. Нарастващата употреба на тези групи лекарства и честото приложение на политерапия в ежедневната медицинска практика налагат внимателен подбор на медикаментите с цел редуциране развитието на серотонинов синдром.

Клинична картина на серотонинов синдром

Серотониновият синдром често се описва като триада от симптоми вариращи по интензитет: нарушен ментален статус, автономна нестабилност и невромускулна хиперреактивност (таблица 8). Клиничната картина е силно вариабилна – от леки до тежки и животозастрашаващи форми, което често е причина за недиагностицирането на синдрома. [110, 111]

Обикновено сиптомите се появяват до 24 часа (най-често в първите 6 часа) след увеличаване на дозата на серотонинергичен медикамент, добавяне на друг такъв или свръхдоза. [112]

Друго проучване обхващащо 236 случая на серотонинов синдром посочва, че само 27.5 % от случаите са проявявили симптоми в първите 6 часа, а 44.5 % от случаите

след 24-тия час. Проучването разделя още пациентите на такива с остри симптоми налагащи интензивно лечение (40.1 % от случаите) и такива с подостри симптоми неизискващи интензивна терапия (59.9 % от случаите). В първата група 52.2 % от пациентите са проявили симптоми в рамките на първите 6 часа, а 19.6 % - след 24-тия час. За разлика от тях, само 11.8 % от пациентите във втората група са проявили симтоми на серотонинов синдром в първите 6 часа и 60.4 % – след първите 24 часа. [4]

Още повече, докладвани случаи на серотонинов синдром предизвикан от едновременната употреба на SSRI и *linezolid*, показват, че при възрастни пациенти началната изява на синдрома може да бъде забавена във времето. [113]

Най-дългото докладвано забавяне в проявата на серотонинов синдром е наблюдавано при мъж на 24 г. – приблизително 72 часа след преднамерен прием на *fluoxetine, cyproheptadine, trazodone, olanzapine, risperidone*, и *bupropion.* Едновременният прием на дългодействащ серотонинов агонист *(fluoxetine)* и краткодействащи серотонинови антагонисти *(cyproheptadine, olanzapine* и *risperidone)* вероятно е маскирало първоначалната изява на синдрома. Плазменият полуживот на *cyproheptadine* е около 16h, следователно след около 80h около 95% от него ще бъде елиминирани, което съвпада с началната изява на симптомите на серотонинов синдром – резултат от продължаващото действие на *fluoxetine* и неговия метаболит с дълго действие – *norfluoxetine*. Въпреки че *olanzapine* и *risperidone* не се използват традиционно за лечение на серотонинов синдром, като серотонинови антагонисти, те вероятно също са оказали първоначално протективно действие. [114]

Следователно, дали серотонинов синдром ще се развие бързо или бавно, може до голяма степен да се определи от фармакокинетичните особености на медикаментите, които са го предизвикали. При пациенти на комбинирана терапия с няколко серотонинергични лекарства, първите симптоми обикновено започват да се проявяват след като вторият медикамент достигне ефективна плазмена концентрация, най-често след приема на една-две дози. [31]

Таблица 8. Клинична картина на серотонинов синдром [6, 7]

Невромускулна хиперреактивност	Акатизия Клонус Миоклонус Мускулна ригидност Нистагъм Тремор Хиперрефлексия
Автономна нестабилност	Диафореза Повишена температура Тахикардия Тахипнея Хипертония
Нарушен ментален статус	Ажитация Объркване Превъзбуда

При **леките форми** е възможно да се наблюдават тахикардия, нискостепенна хипертония, мидриаза, тремор, миоклонус и хиперрефлексия. Обикновено невромускулните находки са по-изразени за долните крайници. Пациентите често са афебрилни. Заради неспецифичната си и вариабилна проява, леките случаи често остават неразпознати. [6]

Средно тежките форми се характеризират с горепосочените симптоми, в комбинация с повишена телесна температура до 40ºC, хиперперисталтика, хоризонтален очен клонус, ажитация и нарушения в речта. [6] С прогресирането на синдрома, невромускулните находи стават по-отчетливи и генерализирани. [31]

При **тежките животозастрашаващи форми** може да се наблюдава делир и мускулна ригидност. Тя от своя страна води до повишаване на телесната температура, като хипертермията може да превиши 41ºC при животозастрашаващите състояния. Пациентите често са хемодинамично нестабилни със сериозни колебания в сърдечната честота и кръвното налягане, което варира от

хипертония до състояние на шок. За разлика от по-леките форми, тежките бързо могат да прогресират, да предизвикат усложнения и да завършат фатално. [7]

Сред всички наблюдавани при серотонинов синдром симптоми, тези със **статистическа значимост** са предимно невромускулните като хиперрефлексия, спонтанен и индуцируем клонус, моиклонус, очен клонус и мускулна ригидност. Сред автономните симптоми такива са: тахикардия, изпотяване, мидриаза и повишена чревна перисталтика проявяваща се в диария. Сред симптомите на нарушен ментален статус статистически най-често се наблюдават ажитация и делир. [7]

Макар и не задължителна клинична находка, **хипертермията** и неадекватното ѝ третиране са най-честата причина за настъпващите усложнения при животозастрашаващите форми на проявен серотонинов синдром. Такива компликации са гърчове, рабдомиолиза, миоглобинурия, метаболитна ацидоза, бъбречна недостатъчност, остър респираторен дистрес синдром, дихатена недостатъчност, дисеминирана интравазална коагулация (ДИК-синдром), кома и смърт. [6] Остава неясно защо едни пациенти развиват хипертермия, а други не. [4, 115]

Въпреки установената класическа триада от симптоми характеризираща серотонинов синдром, клиничната картина може да бъде силно вариабилна и неспецифична, което често превръща диагностицирането на синдрома в истинско предизвикателство. В литературата се описва случай с 50-годишна пациентка с ХБН и терапия с *duloxetine, tramadol* и *ondansetron,* при която серотонинов синдром първоначално се проявява с дифузна болка в тялото. [116] При друг случай на серотонинов синдром, 58-годишен мъж със ЗД тип 2 на терапия с *fluoxetine, fluvoxamine, sertraline, linezolid* и *fentanyl* демонстрира развитие на белодробен оток като усложнение на серотонинов синдром. [117]

Продължителността на един епизод зависи от продължителността на действие и плазмения полуживот ($t_{1/2}$) на медикаментите предизвикали синдрома, а прогнозата за леките и средно тежките случаи като цяло е добра. Дълготрайни последствия се наблюдават обикновено в случаите, в които са настъпили усложнения. [31]

Диагностика на серотонинов синдром

Вариабилната клинична картина, неспецифичните симптоми и липсата на патогномонична клинични белези, превръщат диагностицирането на серотонинов синдром в истинско предизвикателство. Още повече, нито един лабораторен тест не може да потвърди или отхвърли диагнозата „серотонинов синдром“. [118]

Поставянето на диагнозата серотонинов синдром обхваща два основни компонента – подробна анамнеза за всички приемани лекарства и обстоен физикален преглед.

Необходимо е да се събере информация за всички скорошни промени в дозирането или добавянето на нови медикаменти към лекарствения режим. Насочено трябва да се търси информация за приема на ОТС-лекарства, хранителни добавки и незаконни вещества, имайки предвид, че те също могат да предизвикат серотонинов синдром. Присъствието на някои заболявания като депресия и болка могат да насочат вниманието към евентуална употреба на серотонинерични медикаменти. [6]

Що се отнася до физикалния преглед, клиницистите трябва да бъдат фокусирани върху идентифицирането на трите основни компонентна на серотонинов синдром: невромускулна хиперреактивност, автономна нестабилност и нарушения в съзнанието. Неврологичният статус е от съществено значение. [6]

Няколко групи критерии за диагностициране на серотонинов синдром са създадени през годините. Първите такива са публикувани през 1999 г. от **Sternbach** [119], базират се на 38 случая на серотонинов синдром и включват следните симптоми:

- Скорошно добавяне на нов или увеличаване на дозата на досега приеман серотонинергичен медикамент
- Отсъствие на други възможни етиологични причини (инфекция, злоупотреба с незаконни вещества, абстинентен синдром и др.)
- Липса на скорошно добавяне или увеличаване на дозата на досега приеман невролептик
- Поне три от изброените симптоми [31]:
  - ажитация
  - атаксия/нарушена координация
  - диария
  - изпотяване

- миоклонус
- нарушения в менталния статус (объркване, хипомания)
- повишена телесна температура
- тремор
- треперене
- хиперрефлексия

Критериите на **Sternbach** имат няколко недостатъка и рядко се използват в днешно време. От една страна, стриктното им прилагане може да доведе до пропускане на пациенти с леки и подостри симптоми на серотонинов синдром. От друга страна, необходимостта от наличие само на 3 от изброените симптоми показва, че пациенти само с нарушения в менталния статус без никакви невромускулни отклонения на теория отговарят на критериите. Така например симптоми на объркване, ажитация и повишена температура, наблюдавани при антхолинергичен синдром погрешно могат да бъдат разпознати като симптоми на серотонинов синдром. [4, 31]

През 2001 г. **Radomski** [120] усъвършенства критериите на Sternbach базирайки се на 62 случая, включвайки първоначалните 38 случая. Radomski разделя симптомите при серотонинов синдром на основни и второстепенни и добавя мускуната ригидност като невромускулен симптом. [4]

През 2003 г. Dunkley et al. разработват друг подход за диагностициране на серотонинов синдром наречен „**Hunter Serotonin Toxicity Criteria“** или критерии на **Hunter,** базиран на 2222 случая на пациенти със серотонинов синдром в резултат на свръхдоза SSRI. [121] Критериите на Hunter, за разлика от тези на **Sternbach** и **Radomski**, значително повече се фокусират върху невромускулните прояви. Dunkley et al. въвеждат като диагностичен критерий клонусът във всичките му форми (спонтанен, индуцируем и очен клонус), като в същото време премахват миоклонуса. Те установяват, че голям набор от симптоми се асоциират със серотонинов синдром, но за поставянето на точна диагноза, са необходими само 5 от тях – клонус, хиперрефлексия, тремор, ажитация и диафореза, като клонусът се счита за най-важен диагностичен белег. Въпреки че първоначално изследваните случаи не включвали животозастрашаващи форми на серотонинов синдром, повишеният мускулен тонус и хипертермията са били налични във всички наблюдавани случаи, поради което са добавени към диагностичните критерии. [4,

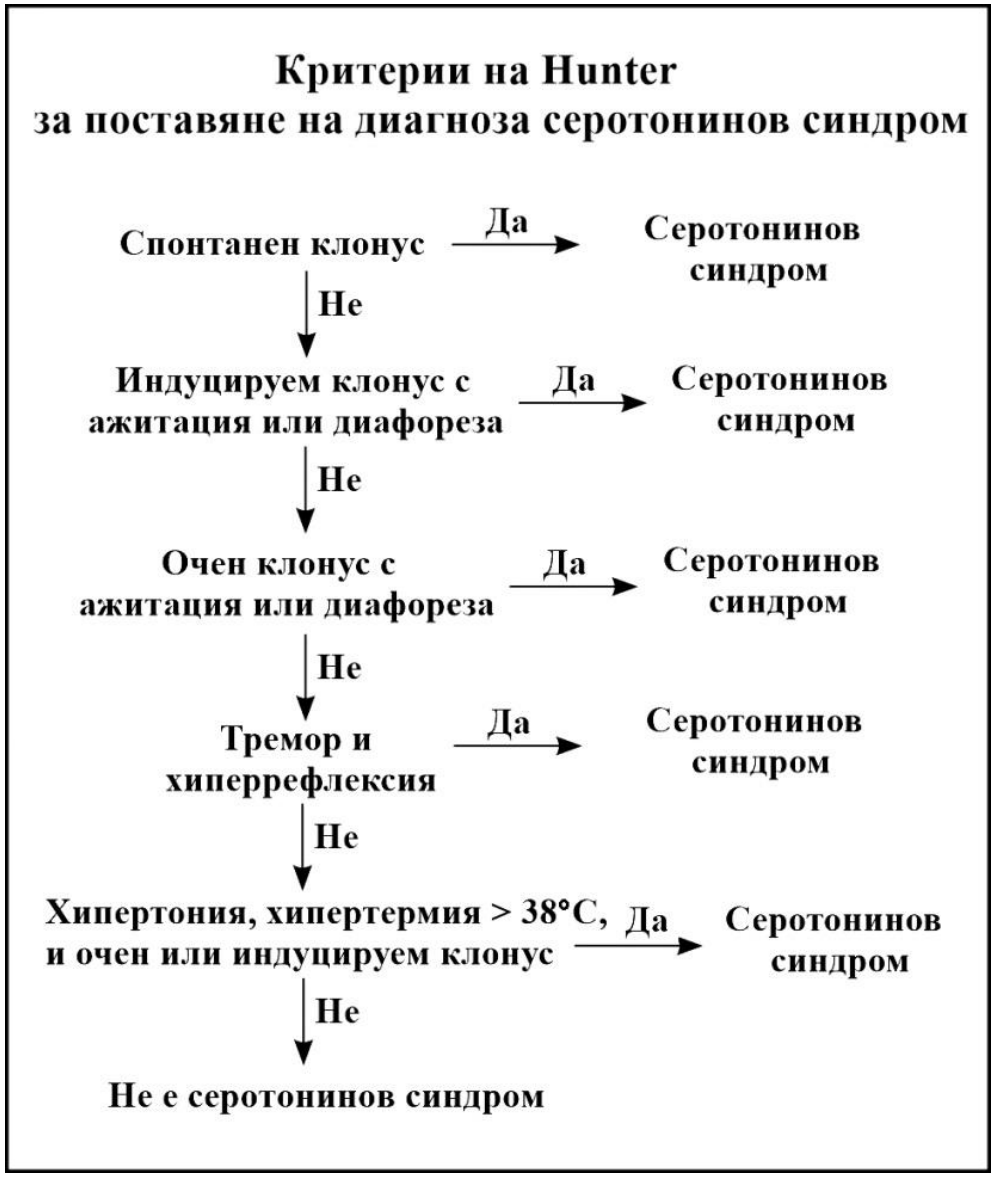
31] Важно е да се отбележи, че мускулната ригидност може да замаскира някои от останалите невромускулни симптоми, с което да затрудни поставянето на диагнозата. [7]

Критериите на Hunter в последствие са разработени като серия от въпроси – наличие или отсъствие на няколко клинични признака, като задължително условие е пациентът да има анамнеза за прием на серотонинергичен медикамент в последните 5 седмици (фигура 2). [7, 8]

Критериите на Hunter са най-често прилаганите в днешно време, тъй като се считат за по-прости, по-специфични и по-чувствителни от останалите две групи критерии. Така например, отдаването на по-малка значимост на менталния статус на пациента и фокусиране върху невромускулния статус, редуцира риска от погрешно разпознаване на други лекарствено-индуцирани делирни състояния като серотонинов синдром. [31] Въпреки това, критериите на Hunter не са лишени от недостатъци.

Проучване от 2016 г. сравняващо трите групи критерии, проведено от Werneke et al. показва, че стриктното приложение на критериите на Hunter може да доведе до пропускане на немалка част от случаите на тежки форми на серотонинов синдром проявили се с рабдомиолиза и наложили интезивно лечение. [4] Същевременно, пациенти с леки форми на синдрома презентиращи се само с автономна нестабилност, могат да останат неразпознати. Още повече, пациенти с неврологични заболявания като периферна полиневропатия може и да не прояват характерните симптоми на хиперрефлексия и клонус. [122] Следователно неизпълнението на, макар и считани за златен стандарт, критерии на Hunter не може да отхвърли на 100% наличието на серотонинов синдром.

В заключение, клиницистите не бива да отхвърлят прибързано диагнозата серотонинов синдром дори и презентираните симптоми да не отгварят стрикно на известните диагностични критерии, особено в случаите, в които има налична анамнеза за прием на серотонинергичен медикамент.



Фигура 2. Критерии на Hunter за поставяне на диагноза серотонинов синдром (Модификация по Adrienne Z. et al., *Prevention, Diagnosis, and Management of Serotonin Syndrome*); *бел. на автора:* „хипертония“ посочена във фигурата има смисъл на „мускулна ригидност“, а не повишено артериално налягане [7, 8]

Диференциална диагноза

Серотониновият синдром е диагноза на изключването. Диференциална диагноза (ДД) трябва да се направи с редица заболявания и състояния, някои от които могат да бъдат отхвърлени на базата на клиничните симптоми, а други – въз основа на историята на приетите медикаменти. Макар и не задължителен симптом, хипертермията проявяваща се при тежките форми на серотонинов синдром, има съществено значение за отграничаването му от други хипертермични състояния. В ДД на серотониновия синдром на първо място влизат **малигнен невролептичен синдром, малигнена хипертермия и антихолинергичен синдром** (таблица 9). [6, 7, 123, 124]

Малигнен невролептичен синдром и серотонинов синдром

Малигненият невролептичен синдром (МНС) е идиосинкразна реакция наблюдаваща се след прием на медикаменти представляващи допаминови антагоисти, най-често антипсихотици. Обикновено МНС има бавно начало настъпващо дни до седмици след началото на терапията и се проявява със симптоми на брадикинезия до акинезия, мускулна ригидност, хипертермия, автономна нестабилност и нарушение в съзнанието. [6, 7]

За разграничаване на серотонинов синдром от МНС основно значение играе анамнезата за вида на приеманите медикаменти. Така например, придружаващи заболявания като шизофрения могат да насочат клинициста към евентуален прием на антипсихотици и вероятно за касаещ се МНС. Друг диагностичен белег е началото на симптомите – при серотонинов синдром обикновено проявяващи се в рамките на 24 часа, а при МНС – дни до седмици след началото или промяна на терапията. В най-голяма степен двата синдрома се разграничават в наличието на брадикинезия при МНС и хиперкинезия при серотонинов синдром. [6, 7]

Проучване посочва обаче, че диференциалната диагноза между серотонинов синдром и МНС често не е толкова лесна по няколко причини [125]:

- серотонинов синдром и МНС клинично проявяват общи симптоми и признаци;
- често пациентите са на комбинирана терапия както с антипсихотични медикаменти, така и със серотонинергични средства (най-често антидепресанти);

- SSRIs действащи като енимни инхибитори могат да увеличат плазмените нива на някои антипсихотици, с което да повишат риска от развитие на МНС;
- атипични антипсихотици като *olanzapine* и *risperidone* могат да предизвикат както МНС, така и серотонинов синдром

Още повече, докладвани са случаи на едновременна изява на серотонинов синдром и МНС. Такъв е случаят на 64-годишен пациент на терапия с *fluoxetine* и *linezolid* (предизиквали серотонинов синдром) и *olanzapine* и *metoclopramide* (предизвикали МНС). [126] Както и случаят на 19-годишно момче приемащо *valproic acid, lithium, ondansetron, risperidone* и *olanzapine.* [123]

Разграничаването на двата синдрома има водещо значение при избора на подходящо лечение. Така например, *bromocriptine* използван понякога при МНС, може да влоши серотонинов синдром, а *chlorpromazine* и *olanzapine* използвани при серотонинов синдром са противопоказани при МНС. [123]

Малигнена хипертермия и серотонинов синдром

Малигнената хипертермия (МХ) е фармакогенетично нарушение на скелетните мускули, което се проявява с хиперметаболитно състояние у предразположени индивиди минути след като са били изложени на експозицията на инхалационни анестетици или деполяризиращия миорелаксант – *succinylcholine*. Класическите симптоми на МХ включват хипертермия, увеличена продукция на въглероден диоксид, метаболитна ацидоза и мускулна ригидност. Кожата обикновено е на петна с участъци на зачервяване и цианоза. [127]

Разграничаването на серотонинов синдром от МХ става основно на базата на данни за приетите медикаменти и началото на симптомите. Така например, симптоми възникнали по време на обща анестезия скоро след приложението на инхалационни анестетици или деполяризиращ миорелаксант, говорят за развитие на МХ. Двата синдрома се разграничават още по наличието на хипорефлексия при МХ и хиперрефлексия при серотонинов синдром. [6, 7]

Антихолинергичен синдром и серотонинов синдром

Антихолинергичният синдром възниква при предозиране на медикаменти притежаващи антихолинергична активност (блкиращи мускариновите рецептори). Проявява се с нарушено съзнание (ажитация/делир), мидриаза, суха, топла и

зачервена кожа, сухота на лигавиците, ретенция на урина и намалена чревна перисталтика.

Повишената чревна перисталтика долавяща се като повишени перисталтични шумове, диафорезата, нормалният цвят на кожата и невромускулните прояви при серотонинов синдром го разграничават от антихолинергичния синдром, при който перисталтиката е намалена, кожата е суха, топла и зачервена и липсват невромускулни прояви. [7]

Абстинентният синдром, който се развива при отнемане на алкохол или бензодиазепини е болест, която имитира серотонинов синдром. Клиничните прояви могат да бъдат под формата на халюцинации, тремор, хиперрефлексия, клонус, тахикардия, хипертония и спазми. В тези случаи данните за настоящите лекарства, консумация на алкохол и терапия за отнемане са от решаващо значение.

Други състояния, от които серотонинов синдром трябва да бъде разграничен са: симпатомиметичен синдром, менингит, енцефалит, топлинен удар, сепсис, delirium tremens и др. [6, 8]

Таблица 9. Диференциална диагноза между серотонинов синдром, МНС, МХ и антихолинергичен синдром [6, 7, 8, 123, 125, 127]

Състояние	Медикамент - причинител	Начало на симптомите	Витални показатели	Зеници	Кожа	Перистал-тика	Невромускулен тонус	Рефлекси	Ментален статус
Серотонинов синдром	Серотонинергични медикаменти	Първите 24 часа, най-често < 12-ти час	Хипертония, тахикардия, тахипнея, хипертермия (>41.1°C)	Мидриаза	Диафореза	Повишена	Повишен, предимно за долните крайници	Хиперрефлексия, клонус (ако не са маскирани от повишен мускулен тонус)	Ажитация, кома
Малигнен невролептичен синдром	Допаминови антагонисти	Няколко дни до седмици	Хипертония, тахикардия, тахипнея, хипертермия (>41.1°C)	Нормални	Бледа кожа, диафореза	Нормална или липсваща	Мускулна ригидност тип „оловна тръба“ за всички мускулни групи	Брадирефлексия	Ступор, мутизъм, кома
Малигнена хипертермия	Инхалационни анестетици; Деполяризиращ миорелаксант (*succinylcholine*)	30 мин. до 24 часа	Хипертония, тахикардия, тахипнея, хипертермия (може да достигне 46.0°C)	Нормални	На петна, диафореза	Намалена	Мускулна ригидност тип „rigor mortis”	Хипорефлексия	Ажитация
Антихолинергичен синдром	Антихолинергични медикаменти	Първите 24 часа	Хипертония (ниско-степенна), тахикардия, тахипнея, хипертермия (обикновено ≤ 38.8°C)	Мидриаза	Топла и зачервена кожа	Намалена до липсваща	Нормален	Нормални	Ажитация, делир

Фармакологични подходи за повлияване на хипертермията при серотонинов синдром

Обикновено симптомите на серотонинов синдром отшумяват в рамките на 24 часа след прекратяване приема на серотонинергичния медикамент и започване на терапия. Въпреки това, при прием на медикаменти с дълъг плазмен полуживот е възможно симптомите да продължат повече от едно денонощие. Лечението се основава на спиране приема на медикамента-причинител, поддържане на виталните показатели, контрол на ажитацията, повлияване на хипертермията и евентуално приложение на серотонинов антагонист. [6, 7, 118]

Терапевтичният подход се определя от състоянието на пациента. При **леките** случаи е достатъчно премахване на лекарството-причинител, стабилизиране на виталните показатели, при необходимост приложение на бензодиазепини за контрол на ажитацията и наблюдение на пациента за поне 6 часа. **Средно** тежките случаи на серотонинов синдром налагат хоспитализация и мониторинг на пациента, а терапията съвпада с горепосочената и евентуално добавяне на серотонинов антагонист. Пациентите в **тежко** състояние трябва да бъдат седирани и миорелаксирани с последваща интубация и поставяне на апаратна вентилация. [6, 7]

Физическата иммобилизция прилагана за контрол на **ажитацията** е противопоказана, тъй като изометричното съкращение на мускулите засилва наличните лактатна ацидоза и хипертермия. За предпочитане е лекарствената седация – основно с *бензодиазепини*. В експериментални животински модели на серотонинов синдром, те подобряват преживяемостта и притъпяват хиперадренергичната фаза на синдрома намалявайки хипертонията. Още повече, *diazepam* оказва благоприятно действие и върху хипертермията. [6, 7]

При силно изразени **хипертония** и **тахикардия** могат да се приложат *esmolol* или *nitroprusside.* [129] От друга страна, **хипотонията** често наблюдавана при употребата на МАО-инхибитори може да бъде повлияна с приложението на директно-действащи симптамомиетици като *norepinephrine, phenylephrine* или *epinephrine.* [6, 7]

Макар и не задължителен симптом, **хипертермията** се наблюдава при тежките и животозастрашаващи случаи на серотонинов синдром. Още повече, наблюдаваните

усложнения асоциирани с по-висока смъртност при серотонинов синдром са резултат главно от неадекватно третиране на хипертермията, което неминуемо налага нейното лечение. [7]

Хипертермията при серотонинов синдром се развива основно на базата на мускулна ригидност, поради което лечението се изразява на първо място в намаляване на муслуната активност чрез приложение на миорелаксант и последвща интубация и апаратна вентилация. Препоръчва се употребата на недеполяризиращи невромускулни блокери. Деполяризиращите миорелаксанти като *succinylcholine* се асоциират с риск от хиперкалиемия и аритмия, поради което са противопоказани. Трябва да се има предвид, че преждевременното прекратяване на невромускулния блок може да доведе до възобновяване на хипертермията. Механичното охлаждане също може да бъде от полза. [7] Употребата на антипиретици е нерационална, тъй като хипертермията при серотонинов синдром не е резултат от промяна в т.нар температурен „set point" в хипоталамуса. [6, 7]

Макар и използван в миналото, *propranolol* не се препоръчва за лечение на серотонинов синдром, тъй като при хемодинамично нестабилни пациенти може да предизвика хипотония и шок. Още повече, той може да маскира наличието на тахикардия, която може да се използва за проследяване на терапевтичния отговор на пациента. [7]

Употребата на *bromocriptine* (допаминов агонист) и *dantrolene* докладвана в някои случаи на серотонинов синдром е неефективна. Данни за тяхната успешна употреба при серотонинов синдром вероятно се дължат на неразпознат МНС, имайки предвид, че двете състояния често трудно се разграничават и че и двата медикамента намират приложение за лечение на МНС. Още повече, има данни, че *bromocriptine* е свързан с развитието на серотонинов синдром и приложението му при пациенти със серотонинов синдром погрешно разпознат като МНС влошава симптомите на серотонинов синдром. Докладван случай на едновременна употреба на *bromocriptine* и *dantrolene* при пациент със серотонинов синдром показва рязко повишаване на температурата завършило със смърт [130]. Още повече, *dantrolene* не е показал ефект върху преживяемостта при експериментални животински модели на серотонинов синдром. [33, 131]

Проучвания посочват ролята на 5-HT_{2A}-рецепторите в развитието на хипертермичен отговор, както и ефектът на 5-HT_{2A}-антагонистите в повлияването на хипертермията при експериментални животински модели на серотонинов синдром.

Проучван и описан е ефектът на редица медикаменти като: *methysergide*; *cyproheptadine*; *propranolol*; *nitroglycerine*; *chlormethiazole*; *ritanserin*; *ketanserin, mirtazapine*; някои антипсихотици като *chlorpromazine, chlorprothixene, sertindole, pipamperone, risperidone* и *olanzapine.* [33, 132–138] Ефективността не на всички тези лекарства е доказана, но резултатите показват значимото участие и ролята на 5-HT_{2A}-рецепторите в развитието на хипертермичен отговор при серотонинов синдром и смъртността асоциирана с него. [33] Друго проучване посочва ролята на бензодиазепините. *Diazepam* отслабва хипертермичния отговор и подобрява преживяемостта в експериментални животински модели на серотонинов синдром. [134]

Поради своя 5-HT_{2A}-антагонизъм, както *cyproheptadine*, така и *chlorpromazine* във високи дози предотвратяват развитието на хипертермия и подобряват преживяемостта при животински модели на серотонинов синдром.

Най-много литературатурни данни има за клиничната употреба на 5-HT_{2A}-антагониста *cyproheptadine*. Няколко докладвани случая посочват ефективността му при леки до средно тежки форми на серотонинов синдром, но ефективността му при тежките случаи не е доказана. Началната доза обичайно е 12 мг, последвана от приложение на 2 мг на всеки два часа ако симптомите продължават, а поддържащата доза възлиза на 8 мг на всеки 6 часа. Недостатък на *cyproheptadine* е фактът, че е наличен само в таблетна и течна форма за орална употреба. Въпреки това, при животозастрашаващи случаи, таблетката може да бъде стрита и приложена през назогастралната сонда. [7, 31, 135]

При необходимост от парентерално приложение на медикамент, може да се използва *chlorpromazine*, който показва силна 5-HT_{2A}-блокираща активност. Началната доза е 12.5 – 25 мг i.v., последвана от 25 мг орално или i.v. на всеки 6 часа. За да се избегне рискът от хипотония асоцииран с приложението му се препоръчва преди приложението на медикамента пациентът да бъде обемно натоварен с течности. *Chlorpromazine* е противопоказан при хипотонични пациенти или когато МНС не може да бъде категорично отхърлен, тъй като самият

chlorpromazine може да влоши симптомите на МНС. Същият трябва да се избягва и ако лекарствата предизвикали серотонинов синдром притежават изразено кардиотоксично или епилептогенно действие (напр. *venlafaxine*). Въпреки че *chlorpromazine* вече не се използва рутинно в практиката, приложението му при тежки и животозастрашаващи случаи не бива да се отхвърля. [31]

Все повече се коментира ролята на атипичните антипсихотици както в развитието на серотонинов синдром, така и в неговото лечение. [30, 139] Известно е, че 5-HT_{1A}-рецепторите се асоциират в най-висока степен с развитието на серотонинов синдром, а блокирането на 5-HT_{2A}-рецепторите понижава или предотвратява хипертермичния отговор. Атипичните антипсихотици притежават 5-HT_{2A}-блокираща активност и 5-HT_{1A}-агонистично действие. Данни посочват, че 5-HT_{2A}-антагонизмът, може да доведе до селективно стимулиране на 5-HT_{1A}-рецепторите, което от своя страна да увеличи чувствтителността на последните към действието на серотонина. Вероятно този механизъм и 5-HT_{1A}-агонистично действие имат роля за асоциирането на атипичните антипсихотици в развитието на серотонинов синдром. От друга страна, *risperidone* подобрява преживяемостта в експериментални животински модели на серотонинов синдром, а *olanzapine* е прилаган успешно сублингвално за лечение на серотонинов синдром, но ефективността му не е строго доказана. [136, 137]

Както вече беше споменато, хипертермията и нейното неадекватно лечение са най-честата причина за усложнения при животозастрашаващите форми на серотонинов синдром.

Проучвания посочват ролята на ГАМК като невротрансмитер участващ в терморегулацията. Това се потърждава от изследвания, при които въвеждането на ГАМК-рецепторни агонисти води до понижаване на телесната температура, докато приложението на ГАМК-рецепторни антагонисти предизвиква хипертермия. Така например, прилагането на $ГАМК_А$-рецепторния агонист *muscimol* (2-8 mg/kg) и $ГАМК_Б$-рецепторния агонист *baclofen* (2,5-10 mg/kg) водят до дозо-зависимо понижаване на телесната температура на експерименталните животни. [140]

Литературните данни сочат, че състония асоциирани с повишена телесна температура причинени от неинфекциозен причинител, например лекарствено-

индуцираните хипертермични състояния, се свързват с по-лоша прогноза, отколкото тези, които са резултат от инфекция. [141]

Ето защо, ключът към редуциране на смъртността от серотонинов синдром е лечението на хипертермията асоциирана с тежките му форми. Във времето, ефективността на различни фармакологични вещества е била изследвана. Въпреки това, все още нито едно лекарство не е клинично одобрено за лечение на серотонинов синдром и хипертермията асоциирана с него.

Нов метод за овладяване на хипертермията при серотонинов синдром чрез дълбока мозъчна стимулация (ДМС) беше предложен от нашия екип, за лечение на животозастрашаващите форми на серотонинов синдром, когато медикаментозното лечение се оказва неефективно или недостатъчно. [142] Електродът се поставя стереотактично във вентрална част на латералното преоптично ядро (VLPO) на хипоталамуса, за което е установено, че играе ключова роля в контрола на терморегулацията.

ДМС е одобрен метод за лечение на рефрактерни състояния като дискинезия, болест на Паркинсон и дистония. [143] Въпреки че засега ефективността на този метод за лечение на хипертермия не е доказана, интересът към ДМС за лечение на редица други състояния като депресия, зависимост, обезитет, синдром на Gilles de la Tourette, есенциален тремор и др. дава надежда за бъдещето ѝ разработване и изследване в тази насока. [144, 145]

Ако се докаже, че тази техника е ефективна, тя може да служи като краен способ за лечение на хипертермични състояние, включително лекарствено-индуцирани такива като серотонинов синдром, малигнен невролептичен синдром, малигнена хипертермия и други.

Превенция на серотонинов синдром и регулаторни проблеми

Серотонинов синдром е рядко докладвано, често подценявано и потенциално животозастрашаващо състояние, което изисква повишено внимание от страна на лекари и пациенти. Ранното разпознаване и бързото иницииране на лечение са от съществено значение за благоприятната прогноза на серотонинов синдром. Тъй като леките случаи често остават неразпознати, при всяко съмнение за развитие на

серотонинов синдром, приемът на всички серотонинергични медикаменти трябва да бъде прекратен.

Превенцията на серотонинов синдром заема централно място в намаляването на разпространението и смъртността от това състояние. Избягването на политерапията е от решаващо значение за предотвратяването на синдрома, имайки предвид широката употреба на антидепресантите и опиоиди и многобройните лекарствени комбинации асоциирани с развитието на серотонинов синдром.

По правило, генеричните лекарства, които са обект на национална процедура за разрешаване за употреба би следвало в информацията си да отразяват почти огледално оригиналните продукти. Това изискване се прилага в България със започване на пред-просъединителни процеси, поради което. старите продукти много често не съответстват или съответстват частично.

Издаването на разрешение за употреба на всеки лекарствен продукт създава предпоставки за появата на сигнали за нови нежелани лекасртвени реакции (НЛР), дължащие се както на лекарствени взаимодействия, така и на взаимодействия лекарство – заболяване/съпътстващи заболявания, които не са били известни в периода преди разрешаването за употреба.

Събирането на пост-маркетингова информация за НЛР би могло да оптимизира информацията за продуктите, с акцент върху добаването на рискови лекарствени взаимодействия, непосочени преди това в Кратката характеристика на продуктите (КХП).

Прояви на серотонинов синдром при животни

Терминът „серотонинов синдром“ при животни е използван за първи път през 1979 г. от Hwang и Van Woert. [146, 147] Проява на серотонинова токсичност е описана при различни животински видове, въпреки това, най-много литературни данни, респективно най-много проучвания, има върху развитието на серотонинов синдром при мишки и плъхове. [146]

За разлика от хората, при които симптомите на серотонинов синдром са добре дефинирани, в литературата се описва голямо разнообразие от прояви и различни комбинации от отговори характеризиращи развитието на серотонинов синдром при гризачи.

Съществува значителна хетерогенност при животинските модели, за които се съобщава в литературата. Използването на различни методи за оценка, различни набори от отговори и различни скали при оценка на ефектите от повишения серотонинергичен тонус ограничават количествените сравнения на резултатите в лабораториите. Във връзка с това, Haberzettl et al. [146] провеждат систематичен литературен преглед на описаните модели на серотонинов синдром при плъхове и мишки и правят оценка на наблюдаваните поведенчески и автономни прояви. Базирайки се на честотата на поява на поведенческите прояви, екипът ги разделя на главни и второстепенни, разграничавайки тези, които надеждно характеризират развитието на серотонинов синдром при гризачи.

Описаните поведенческите симптоми на серотонинов синдром при плъхове включват тремор в покой, поклащане на главата, отвеждане на задния крайник, феномен на Straub (опашката става ригидна с дорзифлексия и остър ъгъл в основата), тъпчене с предните лапи (животното е в покой и движи предните лапи редуващо и повтарящо се), хиперактивност, движение назад, ниска стойка на тялото (животното се движи подобно на влечуго), хиперреактивност, миоклонус, разтърсване на тялото като „мокро куче“ (wet dog shake), повишена или понижена локомоторна активност, ригидност, повдигане на задните лапи и др. Сред тях, най-често наблюдаваните поведенчески симптоми описвани като „традиционни“ или главни са треморът в покой, феноменът на Straub, тъпченето с предните лапи, поклащането на главата, отвеждането на задния крайник и движението назад. [146]

Широко разпространено е схващането, че 5-HT_{1A} рецепторите медиират повечето поведенчески прояви на серотонинов синдром при плъхове. [23, 148–156] В подкрепа на това са проучвания демонстриращи индуцирането на поведенчески прояви на серотонинов синдром от приложението на 5-HT_{1A}-агонисти [151, 157, 158] и индуциране на по-тесен спектър от прояви като отвеждане на задния крайник, феномен на Straub и ниска стойка на тялото, от парциалния 5-HT_{1A}-агонист buspirone. [156]

Други поведенчески реакции на серотонинов синдром при плъхове, като поклащане на главата и „wet dog shake “се медиират от 5-HT_{2A}-рецепторите. [23, 159–162] Така например, поклащане на главата при плъхове индуцирано от приложението на неселективния МАО инхибитор *phenelzine* и инхибитора на обратното захващане на

серотонин *paroxetine,* е било дозо-зависимо антагонизирано от 5-HT_2-антагонисти. [160, 162] Освен това, поклащания на главата предизвикани от въвеждането на 5-$HT_{2A/2C}$ агонист са били антагонизирани от приложението на 5-HT_{2A} антагонист, но не и от 5-$HT_{2C/2B}$ антагонист. [163]

Проявите на серотонинов синдром, наблюдавани при гризачи, наподобяват симптомите на серотонинов синдром при хора (таблица 10). Така например, невромускулните прояви като тремор и мускулна ригидност са наблюдавани както при хора, така и при гризачи. Отчитайки анатомичните разлики и поведенческите прояви на видовете изглежда правдоподобно, че нервномускулните реакции се проявяват по различен начин при хората и гризачите. Миоклонусът, който е клиничен симптом на серотонинов синдром при хора, при гризачи може да се прояви като поклащане на главата и тъпчене с предните лапи. Феноменът на Straub, който за първи път е описан като „състояние на кататонична ригидност при мишки“, може да се отнесе до мускулната ригидност, наблюдавана при хората.

Сред проявите на автономна дисрегулация, промените в телесната температура се появяват както при гризачи, така и при хора.

Най-трудна за отидиференциране при животни е третата група от симптоми характерна за проявата на серотонинов синдром при хора – промените в психичния статус. Въпреки това, хиперактивността и до известна степен хиперреактивността, наблюдавана при гризачи, се свързват с ажитацията наблюдавана при човека. Още повече, важно е да се отбележи, че кристериите на Hunter не включват като задължителен диагностичен критерий промените в психичното състояние, което потвърждава валидността и приложимостта на животинския модел на серотонинов синдром.

Таблица 10. Симптоми и прояви на серотонинов синдром при хора и гризачи

Симптоми/Прояви на серотонинов синдром	**Хора**	**Гризачи**
Невромускулни нарушения	*клонус (спонтанен, индуцируем, очен)* *тремор* *хиперрефлексия* *мускулна ригидност* миоклонус	поклащане на главата тремор отвеждане на задния крайник феномен на Straub ниска стойка на тялото движение назад
Автономна дисрегулация	изпотяване *хипертермия (> 38°C)* диария треперене	промяна в телесната температура (повишаване или понижаване)
Нарушения в менталния статус	*ажитация* объркване хиперактивност хипомания тревожност	хиперактивност хиперреактивност
Други симптоми	повишена чревна перисталтика гадене зачервяване на лицето мидриаза хиперсаливация тахикардия	пилоерекция дефекация саливация хиперхидроза

*Основните симптоми поставящи диагнозата серотонинов синдром според критериите на Hunter са посочени в курсив. [146]

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Цел

Основна цел на експерименталното проучване е да се изследват проявите на серотонинов синдром у плъхове, предизвикан от комбинирано прилагане на антидепресанти и опиоиди и фармакологичното му повлияване от ГАМК-ергични лекарства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти. Цел на дисертационния труд, свързана с лекарствената регулация е оценка на актуалното състояние на някои от разрешените за употреба в страната антидепресанти и опиоиди, предизвикващи серотонинов синдром.

Задачи

1. Изследване на проявите на серотонинов синдром при плъхове, предизвикан от прилагането на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие.
2. Изследване на ефектите на ГАМК-ергични лекарства (*diazepam, vigabatrin*) и 5-НТ-рецепторни антагонисти (*olanzapine, risperidone, asenapine, propranolol, cyproheptadine*) върху поведенчески и автономните прояви при експериментален модел на серотонинов синдром.
3. Изследване на ефектите на ГАМК-ергични лекарства (*diazepam, vigabatrin*) и 5-НТ-рецепторни антагонисти (*olanzapine, risperidone, asenapine, propranolol, cyproheptadine*) върху хипертермичната реакция при експериментален модел на серотонинов синдром.
4. Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермичната реакция, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром.
5. Разглеждане на последните постъпили съобщения на Комитета за оценка на риска в проследяването на лекарствената безопасност (PRAC) за необходимостта от актуализиране на информацията (КХП; ЛП) за някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром.
6. Да се предложи нанасянето на промени в КХП касаещи противопоказания (т.4.3.), специални предупреждения и предпазни мерки за употреба (т.4.4.), лекарствени и други взаимодействия (т.4.5.), нежелани лекарствени реакции

(т.4.8.) и предозиране (т.4.9.) на разгледаните антидепресанти и опиоиди включени в съответните точки от КХП

7. Идентифициране на потенциалните регулаторни пропуски и предлагане на мерки за преодоляването им.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали

1. Експериментални животни

Експерименталните изследвания бяха проведени на мъжки плъхове от порода Wistar с тегло 200-220 g. Общият брой на използваните животни в проучването е 150 плъха. Животните се доставиха от централен вивариум при спазване на стандартни условия за отглеждане, храна и вода. Стриктно бяха спазвани Международните Насоки и Принципи за Експерименти с Животни (International Guiding Principles for Animal Research), както и етичните принципи при планиране и провеждане на експериментите според КЕНИМУС (Комисия по Етика на Научните изследвания при Медицински Университет) и БАБХ с разрешително за използване на животни в опити с регистрационен номер № 250 валидно до 22.11.2024 г.

2. Фармакологични вещества

2.1. Вещества, използвани за моделиране на експериментален серотонинов синдром

Веществата използвани при моделирането на експериментален серотонинов синдром са:

- ***5-hydroxy-L-tryptophan*** (Sigma-Aldrich) – 100 mg/kg (i.p.)
- ***fluoxetine*** (Sigma-Aldrich) – 10 mg/kg (i.p.)
- ***clorgyline*** (Sigma-Aldrich) – 2 mg/kg (i.p.)
- ***tranylcypromine*** (Sigma-Aldrich) – 3.5 mg/kg (i.p.)
- ***tramadol*** (Grünenthal) **–** 20 mg/kg (i.p.)

2.2. Вещества използвани за повлияване на серотонинов синдром

Изследван беше ефектът на следните вещества:

ГАМК-ергични лекарства: ***diazepam*** (Sopharma Pharmaceuticals) и ***vigabatrin*** (Sigma-Aldrich). ГАМК-ергичните лекарства бяха прилагани 10 min преди въвеждането на серотонинергичните вещества в следните дози: ***diazepam*** – 5 mg/kg (i.p.); ***vigabatrin*** – 300 mg/kg (i.p.)

5-HT-рецепторни антагонисти: ***olanzapine*** (Sigma-Aldrich), ***risperidone*** (Sigma-Aldrich), ***asenapine*** (Sigma-Aldrich), ***propranolol*** (Sigma-Aldrich), ***cyproheptadine***

(Sigma-Aldrich). Серотониновите антагонисти бяха прилагани 10 min преди въвеждането на серотонин-ергичните вещества в следните дози: ***olanzapine*** – 5 mg/kg (i.p.); ***risperidone*** – 1 mg/kg (i.p.); ***asenapine*** – 0,6 mg/kg (i.p.); ***cyproheptadine*** – 10 mg/kg (i.p.); ***propranolol*** – 10 mg/kg (i.p.).

При експериментите със системно въвеждане, изследваните вещества бяха прилагани интраперитонеално на мъжки плъхове (200-220 g) в равни инжекционни обеми – по 0,2 ml/100 g. При контролните групи инжектирахме физиологичен разтвор в обем по 0,2 ml/100 g.

Фармакологично-активните вещества бяха въвеждани системно (i.p.) на мъжки плъхове Wistar, разпределени в групи по 6 животни. Дозите на изследваните вещества се подбираха на базата на литературни данни и въз основа на предварителни собствени експерименти.

Методи

1. *In vivo* методи

Експериментите бяха проведени върху мъжки плъхове от порода Wistar с тегло 200-220 g. Плъховете бяха разпределени по 6 в група. Всички експерименти в проучването се провеждаха между 10 – 14h цел да се избегнат промените, дължащи се на денонощните ритми на животните (при циркаден ритъм 12h светло/12h тъмно). Животните се адаптираха предварително в продължение на 24h в условията и при температурата на експеримента. Температурата на околната среда по време на експериментите се поддържаше 22 ± 1° C. Всяко животно се използваше само веднъж.

1.1. Експериментални модели на серотонинов синдром

В проучването бяха използвани модели на серотонинов синдром, предизвикани от комбинирано приложение на:

- ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) – селективен МАО-А инхибитор (по Nisijima et al., 2001)
- ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор (модифициран по Nisijima et al., 2001)
- ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) – селективен инхибитор на невроналното захващане на серотонин и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор (по Shioda et al., 2004)

В проучването беше изследвано взаимодействието между антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие и потенциалното развитие на серотонинов синдром чрез комбинираното приложение на:

- ***tramadol*** (20 mg/kg i.p.) – опиоиден аналгетик и ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен МАО инхибитор
- ***tramadol*** (20 mg/kg i.p.) – опиоиден аналгетик и ***5-hydroxy-L-tryptophan /5-HTP/*** (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин

1.2. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром

При посочените експерименталните модели изследваните и наблюдаваните поведенчески и автономни прояви характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове бяха отчетени по скалата на Haberzettl et al.

Таблица 11. Поведенчески и автономни прояви при серотонинов синдром у плъхове по Haberzettl et al.

Поведенчески прояви		**Автономни прояви**
Главни	**Второстепенни**	
тъпчене с предните лапи поклащане на главата отвеждане на задния крайник ниска стойка на тялото феномен на Straub тремор движение назад	потрепване на тялото дъвчене “head shakes” “head twitches” хиперактивност хиперреактивност повишена/понижена локомоторна активност миоклонус вертикално издигане/повдигане на задни лапи ригидност “wet dog shake”	промяна в телесната температура (повишаване/понижаване) ретракция на долната устна ерекция на пениса пилоерекция саливация

1.3. Мониториране на телесната температура

Телесната температура на животните регистрирахме чрез ректални термистори (TX-8), които са свързани с мултиканален апарат Iso-Thermex 16 (Columbus Instruments, USA), работещ с компютърна програма. След лубрикация с вазелин термисторите

се въвеждаха ректално на дълбочина 6 см. На всяко животно се регистрираше изходната телесна температура като след прилагането на веществата температурата се отчиташе през интервали от 30 min до отзвучаване на ефекта на веществата.

2. Определяне на концентрацията на серотонин в кръвен серум на мъжки плъхове Wistar с метод ELISA по методология, предложена от производителя на кита

В края на експерименталния протокол бяха взети кръвните проби за анализ при спазване на разпоредбите на КЕНИМУС и БАБХ. Кръвта на животните беше събрана във вакутейнери (Serum Sep Clot Activator), оставена да се утаи за 10 мин на стайна температура, след което пробите бяха центрофугирани на 4000 оборота за 10 мин при 4°C. След това центрофугираните проби бяха съхранени на -20°C до момента на анализа.

За определяне на концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни беше използван ELISA кит (Abbexa, USA, cat. # abx 257126, обхват 15,63 ng/mL – 1000 ng/mL, чувствителност 9,38 ng/mL). След стриктно спазване на методологията, предложа от производителя на кита, абсорбцията беше отчетена с помощта на BioTek microplate reader ELx800 при 450 nm. Данните от абсорбцията бяха използвани за калкулиране на концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни.

3. Статистически анализ

Данните от *in vivo* експериментите бяха анализирани със софтуер Graph Pad InStat Software. Получените екпериментални резултати са обработени статистически и представени като средни стойности ± S.E.M посредством методите на дисперсионния анализ (one-way ANOVA) и представени графично със софтуер Microsoft Exel, 2003. Статистическата достоверност бе установена с помощта на t-test на Student и paired t-test.

4. Систематичен литературен преглед

Беше извършен преглед на наличната документация за идентифициране на съответствие/пропуски в информацията за продуктите (КХП; ЛП), документация подкрепяща разрешенията за употреба и планове за управление на риска.

Методологичният подход, който беше избран включва четири последователни етапа:

1. Изясняване на регистрационния статус на някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром, включително типа на процедурата, по която са издадени разрешенията за употреба.
2. Анализ на данните за противопоказания (т.4.3.), специални предупреждения и предпазни мерки за употреба (т.4.4.), лекарствени и други взаимодействия (т.4.5.), нежелани лекарствени реакции (т.4.8.) и предозиране (т.4.9.) включени в съответните точки от КХП.
3. Анализ на постъпилите съобщения за лекарствени и други взаимодействия, както и съобщенията за нежелани лекарствени реакции, в това число серотонинов синдром на разгледаните антидепресанти и опиоиди.
4. Анализ на приложената клинична документация, подкрепяща издаването на разрешение за употреба (модули 2.5 и 5 от досието на лекарствените продукти).

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Резултати от *in vivo* опити

1.1. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром

При посочените експериментални модели бяха изследвани и наблюдавани поведенчески и автономни прояви характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове и бяха отчетени по Haberzettl et al. (таблица 12).

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Едно от експерименталните животни в тази група (n=6) завърши с летален изход отчетен на 90 мин. от началото на експеримента. Сред поведенческите реакции най-рано – на 15-та минута се появиха т. нар ниска стойка на тялото описвана в литературата като движение на животното ниско до земята като влечуго) и феномен на Straub. По-късно на 22-ра минута беше наблюдаван т.нар. “wet dog shake”. По-късно на 45-та минута бяха наблюдавани поклащане на главата и тремор. При всички животни беше отчетена хиперактивност. Сред автономните реакции най-рано на 15-та минута бе наблюдавана пилоерекция, а на 30-та минута покачване на температурата.

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *clorgyline (2 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Всички животни в тази група (n=6) завършиха с летален изход между 60 и 90 мин от началото на експеримента.

Комбинираното приложение на *fluoxetine (10 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на серотонинов синдром у експерименталните животни. Специфични промени в поведението на плъховете като тремор и поклащане на главата се наблюдаваха на 90 мин. след инжектирането серотонинергичните вещества. Летален изход не беше наблюдаван.

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p)* с *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.),* както и *tramadol (20 mg/kg i.p) с 5-HTP (100 mg/kg i.p.)* доведе до проява на някои симптоми като пилоерекция и феномен на Straub. Други специфични симптоми на проявен серотонинов синдром не бяха наблюдавани.

Таблица 12. Поведенчески и автономни прояви при модели на експериментален серотонинов синдром

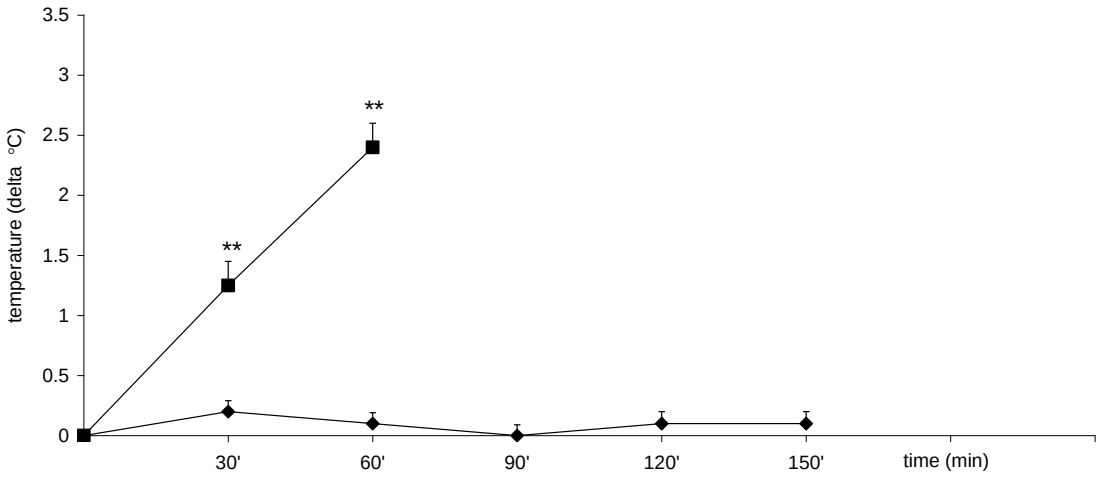
Проява			Модел на серотонинов синдром				
			5-HTP + clorgyline	5-HTP + tranylcypromine	fluoxetine + tranylcypromine	tramadol + tranylcypromine	tramadol + 5-HTP
Поведенчески	Главни	тъпчене с предните лапа	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		head weaving [a]	+	+	+	–	–
		отвеждане на задния крайник	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		ниска стойка на тялото	–	+	–	–	–
		феномен на Straub	+	+	+	+	+
		тремор	+	+	+	–	–
		движение назад	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	Второстепенни	потрепване на тялото	+	+	+	–	–
		дъвчене	–	+	–	–	–
		head shakes [b]	+	+	+	–	–
		head twitches [c]	–	–	–	–	–
		хиперактивност	+	+	–	–	–
		хиперреактивност	–	–	–	–	–
		повишена локомоторна активност	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		миоклонус	–	–	–	–	–
		повдигане на задни лапи	–	+	–	–	–
		ригидност	–	–	–	–	–
		wet dog shake [d]	–	+	–	–	–
Автономни		повишаване на телесната температура	+	+	+	+	+
		ретракция на долната устна	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		ерекция на пениса	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		пилоерекция	+	+	+	+	+
		саливация	+	+	–	–	–

Отбелязани (+) са само проявите, които са били отчетени при минимум 3 от експерименталните животни за всяка група (n=6); Макар и близки, термините *head weaving* [a], *head shakes* [b] и *head twitches* [c] се различават: a – хоризонтално движение на главата, b - кратки и отсечени движения на главата в различни посоки, c - резки движения на главата само от врата, d - разтърсване на тялото като "мокро куче". Заради леко изразената принудителна фиксация на експерименталните животни, необходима за отчитане на ректалната им температура, не беше възможно да се отчетат симптоми проявяващи се при свободно движение на животните (като тъпчене с предните лапи, отвеждане на задния крайник и движение назад, локомоторна активност) или такива, които не могат да бъдат наблюдавани заради принудителната поза (като ретракция на долната устна и ерекция на пениса), поради което в таблицата са означени като неприложими (not applicable, N/A)

1.2. Промяна в телесната температура при експериментални модели на серотонинов синдром и нейното фармакологично повлияване

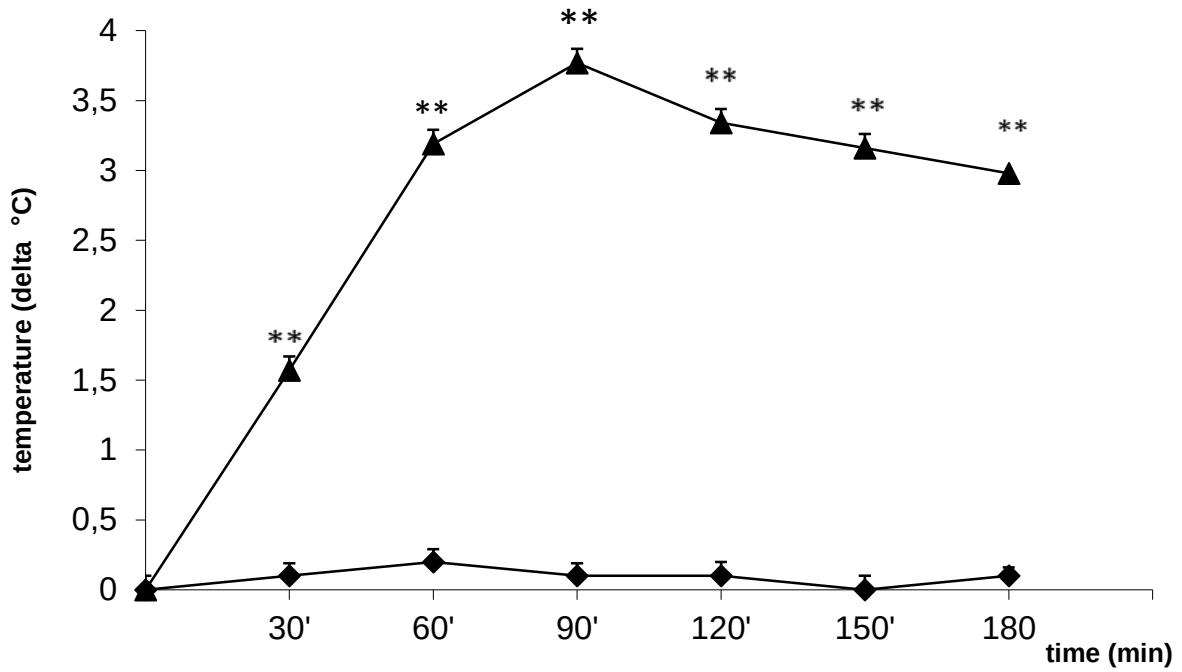
1.2.1. Хипертермия индуцирана от комбинираното приложение на антидепресанти и опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.) и clorgyline (2 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 30 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 60 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 3).



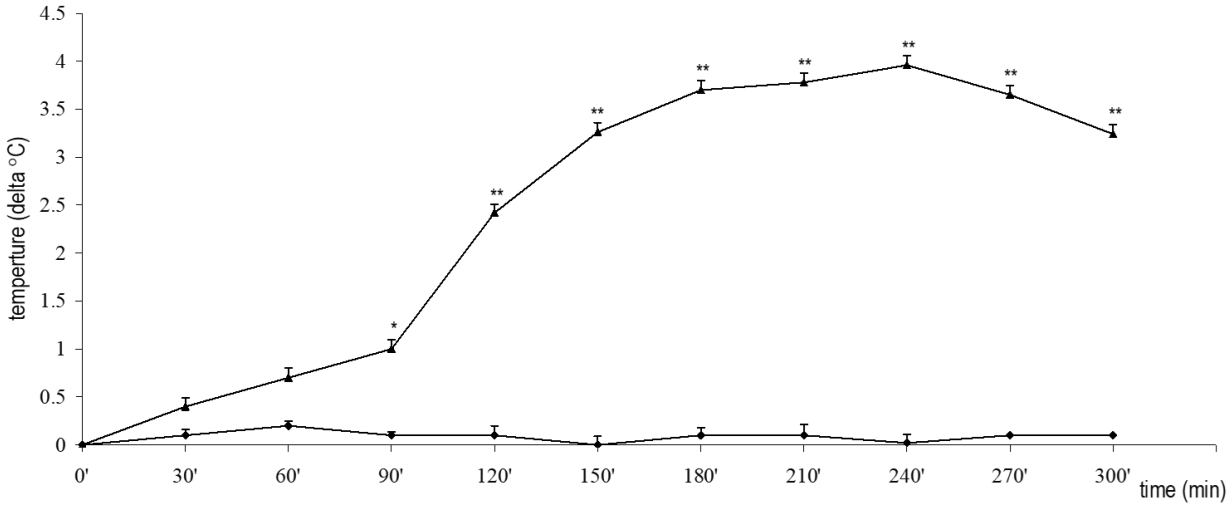
Фигура 3. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *5-HTP и clorgyline.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ■ ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: **$p < 0.01$.

Комбинираното приложение на *5-HTP (100 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 30 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 90 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 4).



Фигура 4. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *5-HTP* и *tranylcypromine.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: **p < 0.01.

Комбинираното приложение на *fluoxetine (10 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика развитието на хипертермична реакция на 90 мин., а максимална стойност беше наблюдавана на 240 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (фигура 5).



Фигура 5. Промяна в телесната температура при модел на серотонинов синдром предизвикан от комбинираното приложение на *fluoxetine* и *tranylcypromine*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl*** (контрола). Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p.)* и *tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.)* предизвика статистически значимо повишаване на телесната температура на животните на 30 и 60 мин. от началото на експеримента. Максимално повишаване на телесна температура с 1.23 °C спрямо изходната беше отчетено на 30 мин. При едно от експерименталните животни беше отчетено покачване на телесната температура до 40.14 °C на 30 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества (таблица 13).

Комбинираното приложение на *tramadol (20 mg/kg i.p.)* и *5-HTP (3,5 mg/kg i.p.) предизвика* статистически значимо повишаване на телесната температура на животните между 60 и 180 мин. Максимално повишаване на телесна температура с 1.49 °C спрямо изходната беше отчетено на 120 мин. след инжектирането на серотонинергичните вещества. При едно от експерименталните животни беше наблюдавано покачване на телесната температура до 40.03 °C на 60 мин. от началото на експеримента (таблица 13).

Таблица 13. Промяна в телесната температура, предизвикана от комбинираното приложение на tramadol (20 mg/kg i.p.) и tranylcypromine (3,5 mg/kg i.p.) и tramadol (20 mg/kg i.p.) и 5-HTP (3,5 mg/kg i.p.).

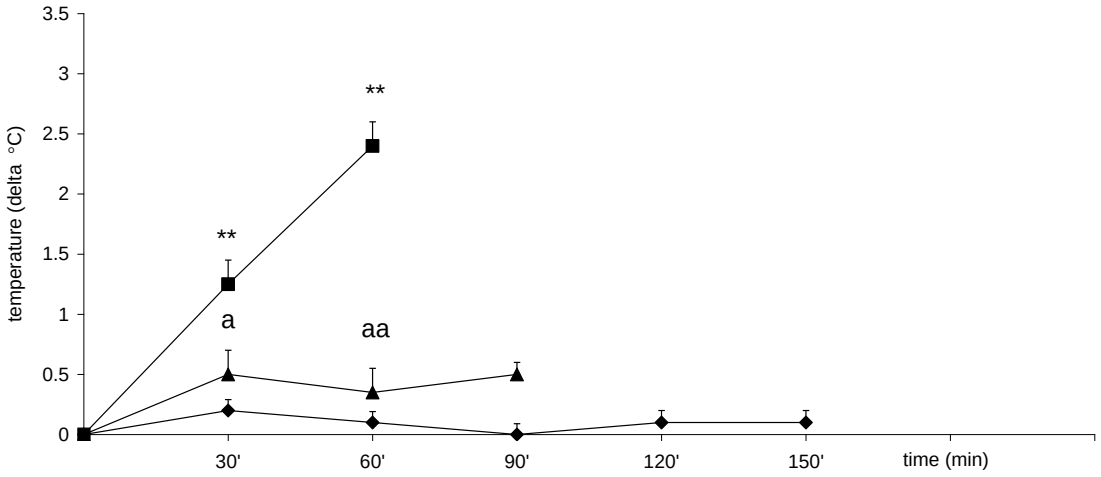
Модел	**Средна температура**						
	Изходна	**30 мин.**	**60 мин.**	**90 мин.**	**120 мин.**	**150 мин.**	**180 мин.**
Tramadol + Tranylcypromine	**37.37**	**38.60***	**38.54***	**38.11**	**37.67**	**37.35**	**37.30**
Tramadol + 5-HTP	**37.34**	**37.58**	**38.32***	**38.45***	**38.83****	**38.31***	**38.39***

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

1.2.2. Повлияване на хипертермичната реакция от ГАМК-ергични вещества

Ефект на ***diazepam*:**

Предварителното приложение на *diazepam* в доза 5 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *5-HTP* и *clorgyline* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 30 мин. в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (*5-HTP* + *clorgyline*), при която преди инжектирането на серотонинергичните вещества беше въведен физиологичен разтвор (фигура 6).

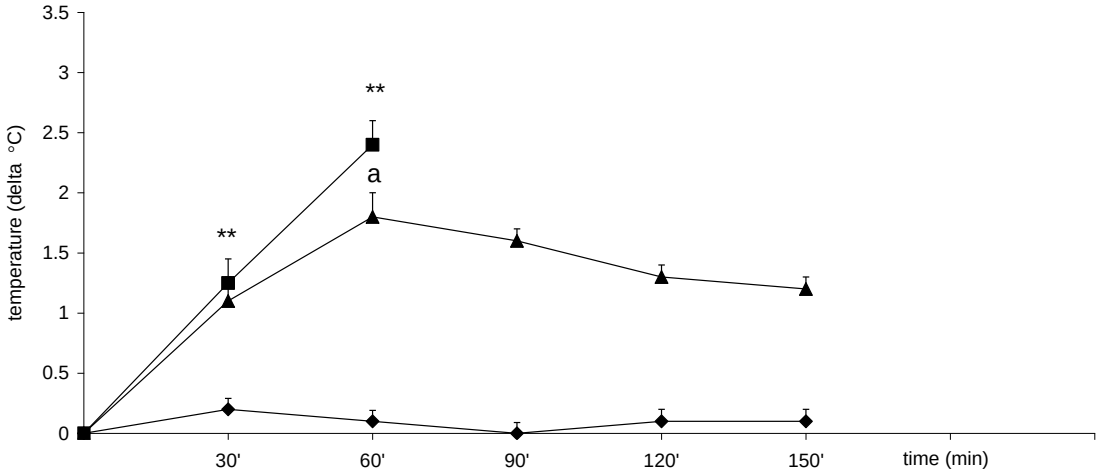


Фигура 6. Ефект на *diazepam* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром, предизвикан от приложението на *5-HTP* и *clorgyline*.

Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на: ■ 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); ▲ ***diazepam*** (5 mg/kg i.p.) + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl***. Статистическа значимост: в сравнение с NaCl: **$p < 0.01$; в сравнение с 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); $^{a}p < 0.05$, $^{aa}p < 0.01$.

Ефект на ***vigabatrin*:**

Предварителното приложение на *vigabatrin* в доза 300 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *5-HTP* и *clorgyline* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 60 мин в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (*5-HTP + clorgyline*), при която преди инжектирането на серотонинергичните вещества беше въведен физиологичен разтвор (фигура 7).



Фигура 7. Ефект на *vigabatrin* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *5-HTP* и *clorgyline*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на: ■ 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); ▲ ***vigabatrin*** (300 mg/kg i.p.) + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.) и ◆ 0,9 % ***NaCl***. Статистическа значимост: в сравнение с NaCl: **p < 0.01; в сравнение с 0,9 % ***NaCl*** + ***5-HTP*** (100 mg/kg i.p.) + ***clorgyline*** (2 mg/kg i.p.); $^{a}p < 0.05$.

1.2.3. Повлияване на хипертермичната реакция от 5-НТ-рецепторни антагонисти

Ефект на ***cyproheptadine*:**

Предварителното приложение на *cyproheptadine* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермична реакция (таблица 15).

Ефект на ***propranolol*:**

Предварителното приложение на *propranolol* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (таблица 14).

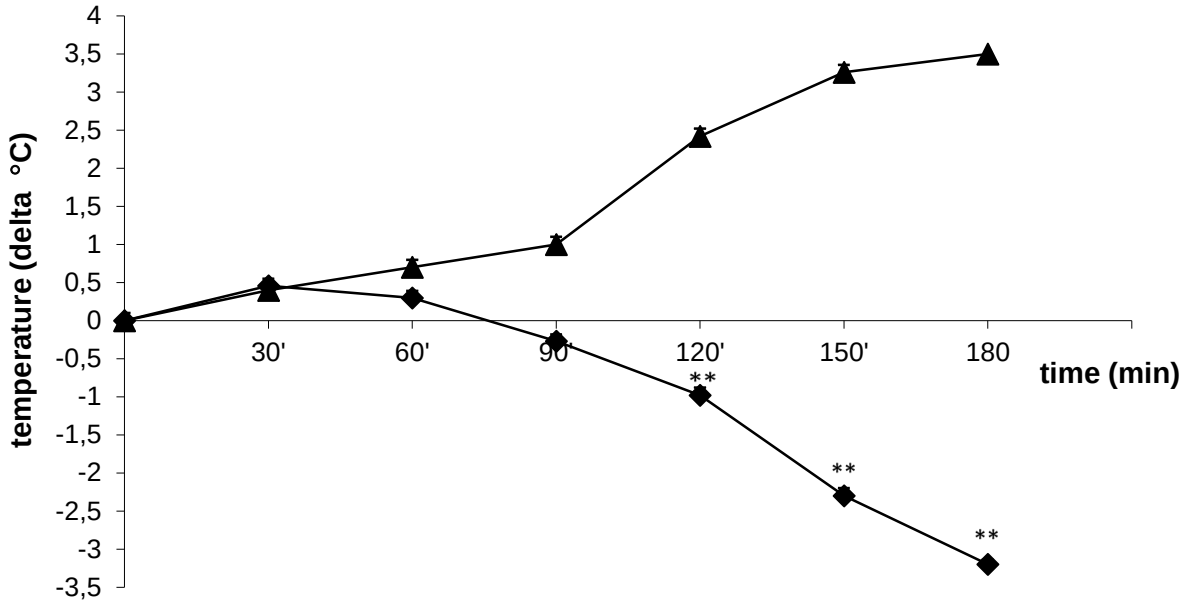
Таблица 14. Ефект на *cyproheptadine и propranolol* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром, предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.*

5-НТ-антагонист	Средна температура						
	Изходна	30 мин.	60 мин.	90 мин.	120 мин.	150 мин.	180 мин.
Cyproheptadine	**37.39**	**37.57**	**37.22**	**36.37***	**35.98****	**35.68****	**35.56****
Propranolol	**37.46**	**36.29***	**36.28***	**35.72****	**35.38****	**35.17****	**35.21****

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

Ефект на ***asenapine*:**

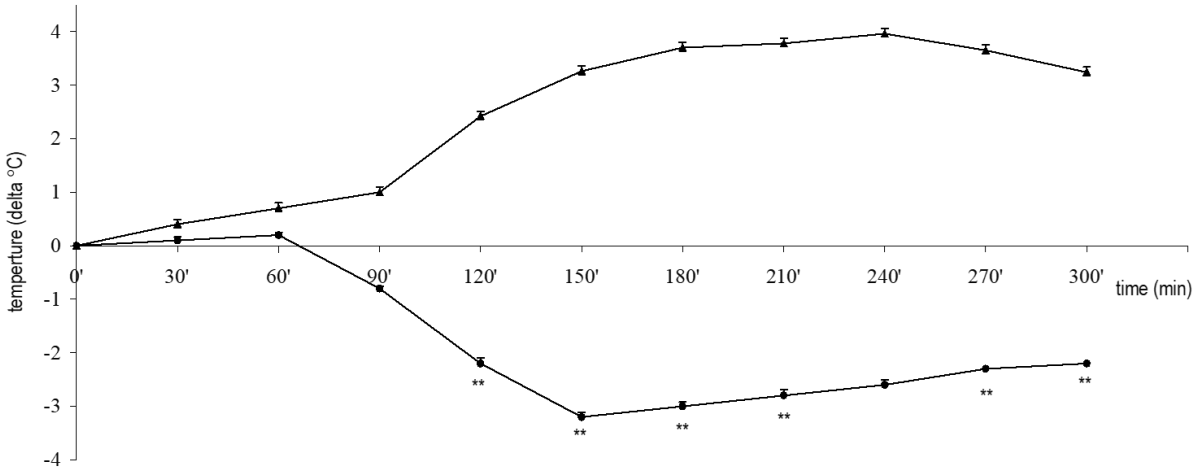
Предварителното приложение на *asenapine* в доза 10 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (фигура 8, таблица 16).



Фигура 8. Ефект на *asenapine* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine*. Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ◆ ***asenapine*** (0,6 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.): **$p < 0.01$.

Ефект на ***olanzapine*:**

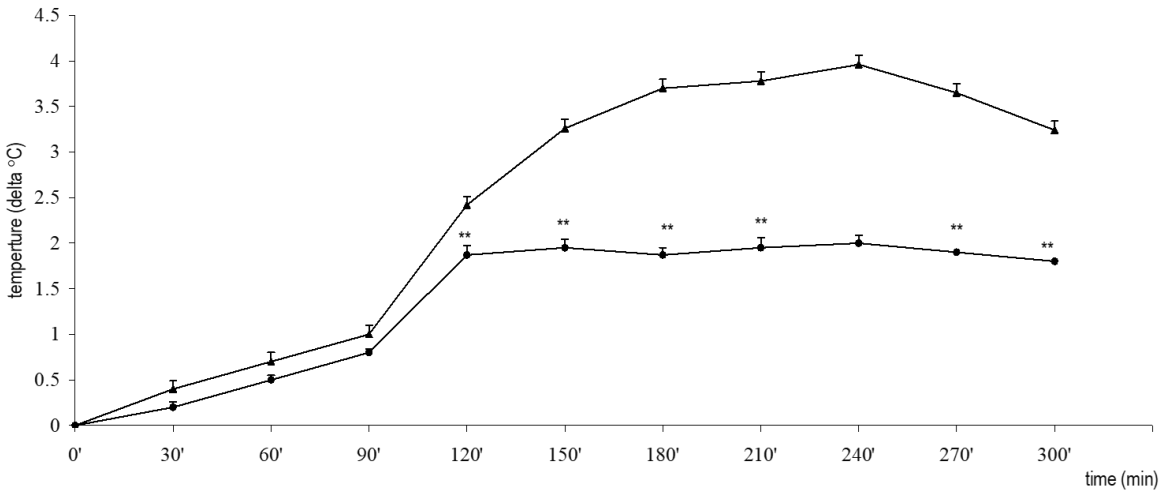
Предварителното приложение на *olanzapine* в доза 5 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* потисна развитието на хипертермичната реакция (фигура 9, таблица 16).



Фигура 9. Ефект на *olanzapine* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ■ ***olanzapine*** (5 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.); *p < 0.05, **p < 0.01.

Ефект на ***risperidone*:**

Предварителното приложение на *risperidone* в доза 1 mg/kg (i.p.) на плъхове с модел на серотонинов синдром, предизвикан от инжектирането на *fluoxetine* и *tranylcypromine* доведе до намаляване на хипертермичната реакция на 120 мин в сравнение с групата с модел на серотонинов синдром (фигура 10).



Фигура 10. Ефект на *risperidone* върху хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.* Средна промяна на телесната температура на плъхове (temperature delta °C) след прилагане на ▲ ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.) и ■ ***risperidone*** (1 mg/kg i.p.) + ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.). Статистическа значимост в сравнение с ***fluoxetine*** (10 mg/kg i.p.) + ***tranylcypromine*** (3,5 mg/kg i.p.); **$p < 0.01$.

Сравнително изследване на ефектите на ***asenapine*** и ***olanzapine*** с ефекта на ***cyproheptadine*** върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром:

Резултатите от настоящето проучване показват, че предварителното прилагане на asenapine (в доза 0.6 mg/kg, i.p.) или olanzapine (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлияха хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром у плъхове, сравнимо с ефекта на cyproheptadine (таблица 15).

Таблица 15. Сравнително изследване на ефектите на *asenapine* и *olanzapine* с ефекта на *cyproheptadine* върху хипертермията, наблюдавана при лекарствено индуциран серотонинов синдром, предизвикан от *fluoxetine* и *tranylcypromine.*

5-HT$_2$-антагонист	**Средна температура**						
	Изходна	**30 мин.**	**60 мин.**	**90 мин.**	**120 мин.**	**150 мин.**	**180 мин.**
Cyproheptadine	**37.39**	**37.57**	**37.22**	**36.37***	**35.98****	**35.68****	**35.56****
Asenapine	**37.06**	**37.52**	**37.36**	**36.79**	**36.08***	**34.76****	**33.90*****
Olanzapine	**37.09**	**37.18**	**37.00**	**36.20***	**35.60****	**35.20****	**35.50****

Статистическа значимост в сравнение с NaCl: *p < 0.05, **p < 0.01.

2. Концентрация на серотонин в кръвен серум на плъхове с модел на серотонинов синдром

Концентрацията на серотонин в кръвния серум на експерименталните животни беше определена чрез метода ELISA. Приблизително еднаква концентрация на серотонин от 1.74 ng/ml беше отчетена в кръвния серум на експерименталните животни от контролната група, както и тези с модел на серотонинов синдром с или без приложението на 5-НТ-рецепторни антагонисти (таблица 16). Въпреки наличието на изразени поведенчески и автономни прояви, повишена концентрация на серотонин в серума на експерименталните животни не се установи.

Таблица 16. Концентрация на серотонин в кръвен серум на плъхове с модел на серотонинов синдром

Група	Доза (mg/kg)	Брой животни (n)	Концентрация (ng/ml)
Контрола	**-**	**6**	**1.7403**
Модел на серотонинов синдром	**10 (fluoxetine)** **3.5 (tranylcypromine)**	**6**	**1.7416**
Asenapine	**0.6**	**6**	**1.7425**
Cyproheptadine	**10**	**6**	**1.7423**

3. Регулаторни проблеми при някои антидепресанти и опиоиди предизвикващи серотонинов синдром

Антидепресанти

От групата на селективните инхибитори на обратното захващане на серотонина в България разрешени за употреба са: ***fluoxetine***, ***fluvoxamine***, ***citalopram***, ***escitalopram***, ***sertraline*** и ***paroxetine***. Лекарствените продукти, съдържащи тези активни вещества са разрешени по **национална** или **децентрализирана** процедура и се разпределят по начина представен на таблица 17.

Таблица 17. Лекарствените продукти, съдържащи SSRIs разрешени за употреба по национална или децентрализирана процедура

Оригинален продукт	**Генерични продукти**
Fluoxetine	няма представени
Fluvoxamine	няма представени
Citalopram	2 генерични продукта
Escitalopram	11 генерични продукта
Sertraline	5 генерични продукта
Paroxetine	5 генерични продукта

Прегледани бяха кратките характеристики и листовки за пациента на общо 29 разрешени за употреба лекарствени продукта съдържащи горепосочените лекарствени вещества като същите бяха сравнени с информацията за референтните продукти, разрешени за употреба в ЕС.

Критериите, по които бяха сравнени са:

- специални предупреждения и предпазни мерки при употреба
- нежелани лекарствени реакции

През 2005 година в ЕС е приключила арбитражна процедура по чл. 31 от Директива 2001/83/ЕС за **всички SSRIs-съдържащи лекарствени продукти**, във връзка с установен **повишен риск от суицидни мисли и суицидно поведение при деца и юноши.** В този период България още не е била член на ЕС, но регулаторната рамка е била изцяло хармонизирана с европейските изисквания, с оглед предстоящото присъединяване на страната. С оглед на това, още в този пред-присъединителен период всички притежатели на разрешение за употреба (ПРУ) на съществено-подобни (генерични) лекарствени продукти са предприели необходимите мерки за уеднаквяване на информацията за продуктите (КХП и ЛП) с референтните такива по отношение на терапевтични индикации и противопоказания.

Същевременно следните факти правят впечатление:

Citalopram

При един продукт разрешен за употреба по **национална** процедура, информацията не е актуализирана от 2011 година.

Sertraline

От наличните 5 генерични продукти 1 е получил РУ по децентрализирана процедура, а останалите 4 са получили РУ по национална процедура. След първоначалната хармонизация на информацията за продуктите, при едно **национално** РУ се наблюдава липса на актуализация на КХП от 2011 година.

Paroxetine

През 2018 година Комитетът за лекарствена безопасност, след приключена процедура за единна оценка на периодични доклади за безопасност (PSUSA) на лекарствени продукти, съдържащи *paroxetine* е излязъл с препоръка **за включване на „бруксизъм“ като нежелана лекарствена реакция с неизвестна честота.** Съгласно действащата регулаторна рамка този тип промени следва да бъдат имплементирани от ПРУ в рамките на предварително зададена от PRAC (Комитет за оценка на риска в проследяването на лекарствената безопасност) крайна дата и Изпълнителната агенция по лекарствата (ИАЛ) да бъде информирана до 14 дни след имплементирането й.

Резултатите от проведеното проследяване на информацията за продуктите, съдържащи *paroxetine* показва, че от всички 6 лекарствени продукта (от които 4 са

разрешени по национална процедура и 2 по DCP) при 1 е подадено заявление за промяна тип IB, която предполага имплементиране до 6 месеца след одобрението и един ПРУ не е актуализирал информацията за продукта си.

Допълнително, на 16 май 2019 Комитетът за лекарствена безопасност към EMA (PRAC) е разгледал информация от сигнали за **нежелани лекарствени реакции** за някои антидепресанти (налични в EudraVigilance, научната литература, социалните медии и кумулативни доклади, предоставени от ПРУ): Fluoxetine (Elililly), Citalopram, Escitalopram (Lundbeck), Fluvoxamine (Mylan), Sertraline, Paroxetine (Gsk), Vortioxetine, Venlafaxine (Almirall), Desvenlafaxine (Pfizer), Duloxetine, Milnacipran (Pierrefabre), Clomipramine (Alfasigma).

След анализ на получените съобщения и предоставената допълнителна информация PRAC взема решение, че всчки ПРУ на продукти, съдържащи тези активни вещества трябва да подадат заявления за промяна в информацията за продуктите в рамките на следващите два месеца.

От проследяване на наличната информация може да се направи извода, че притежателите на разрешения за употреба по **национална** процедура **не се съобразяват** с препоръките на Комитета по лекарствена безопасност и **не въвеждат своевременно** новите данни за безопасност на продуктите си в информацията, която се разпространява до медицинските специалисти и до пациентите.

Опиоиди

Dextromethorphan

По време на оценката на периодични доклади за безопасност (ПДБ) през 2018 година (*PSUSA/00001009/201811)* Комитетът по лекарствена безопасност публикува следното становище:

На база на прегледа на постмаркетинговите данни, PRAC препоръчва добавянето на предупреждения в точка 4.4 на КХП относно: **серотонинов синдром**, лекарствена зависимост и **употреба при деца**. Освен това, тъй като рискът от предозиране е допълнително охарактеризиран чрез оценяване на постмаркетинговото наблюдение, PRAC счита, че информацията относно симптомите и лечението на предозиране

трябва да бъде включена в точка 4.9 на КХП. Препоръчва се актуализиране на листовката.

Засегнати продукти са:

- Stopex 30 mg таблетки
- Demephan 3,42 mg/ml сироп
- Dinarex 1,5 mg/ml сироп

Tramadol

(PSUSA/00003002/201705)

Въз основа на прегледа на наличните в литературата данни и предвид приноса на работната група по фармакогеномика (PGWP) и педиатричния комитет (PDCO), PRAC препоръчва да се добави строго предупреждение в точка 4.4 на КХП за това, че **трамадол се метаболизира чрез CYP2D6**, както и за **употребата му при деца в постоперативен период** и **деца с компрометирана дихателна функция**. Освен това, тъй като рисковете от зависимост и симптомите на отнемане са по-добре характеризирани чрез оценката на наличните в литературата данни и постмаркетинговото наблюдение, точка 4.4 на КХП трябва да се актуализира съответно (таблица 18).

Таблица 18. Лекарствените продукти, съдържащи tramadol, за които промяната не е имплементирана.

Продукти, за които промяната НЕ е имплементирана	**Продукти, за които промяната НЕ е имплементирана, но предстои**
• Tramadol STADA 50 mg/ml инжекционен разтвор • Tramadol KRKA 50 mg твърди капсули	• Tramadol KRKA 50 mg/ml инжекционен разтвор • Tramadol KRKA 100 mg/2 ml инжекционен разтвор • Doreta SR 75 mg/650 mg таблетки с удължено освобождаване

Suboxone (buprenorphine/naloxone)

През 2016 г. FDA предупреждава за няколко проблема свързани с безопасността на приложение на опиоидните аналгетици (в това число и риск от развитие на серотонинов синдром), които са наложили промяна в КХП и ЛП. Доказателствата се основават на 43 случая докладвани от FAERS, при които опиоидите са били използвани едновременно със серотонинергични лекарства (без докладвани случаи на серотонинов синдром при монотерапия). Сред посочените данни, опиоидите най-често асоциирани със серотонинов синдром са *fentanyl, oxycodone* и *methadone*.

На базата на тези събития ЕМА в сътрудничество с PRAC предприемат преразглеждане на данните за централно оторизираните продукти (CAPs). По това време КХП в Европа съдържащи *fentanyl* са били с вече посочен серотонинов синдром, следователно никакви действия не са били необходими.

Въпреки това, в КХП на продукта ***Suboxone (buprenorphine/naloxone)*** не се споменава серотонинов синдром и единственото предупреждение касаещо антидепресанти е в т.4.5., както следва: **„едновременното приложение на моноаминооксидазни (МАО) инхибитори може да доведе до усилване на ефектите на опиоидите въз основа на опита с морфин“** и „други депресанти на централната нервна система, други опиатни производни (напр. метадон, аналгетици и антитусиви), определени **антидепресанти**, седативни H1-рецепторни антагонисти, барбитурати, анксиолитици, различни от бензодиазепини, невролептици, клонидин и сродни вещества: **тези комбинации повишават потискането на централната нервна система**“

Още повече, при преглед на информацията налична в базата данни на EudraVigilance проведен през август 2019 г. бяха намерени общо 22 случая на серотонинов синдром с участието на ***Suboxone.***

С оглед на известния риск от взаимодействие между опиоиди и антидепресанти водещо до развитието на серотонинов синдром (което е добре описано в „информацията за продукта“ в САЩ, но не и в КХП в Европа) и като се вземат под внимание наличните данни от EudraVigilance и литературата:

1. PRAC препоръчва сигналът да бъде допълнително оценен. От ПРУ се изисква:

- Да предостави общ преглед на цялата налична информация (спонтанни доклади, литература, база данни за безопасност и клинични изпитвания) за употребата на *buprenorphine/naloxone* свързана с развитието на „серотонинов синдром“. Причинно-следствената връзка при всеки един случай трябва да бъде представена в съответствие с установените гайдлайни на СЗО (WHO-UMC causality assessment guideline)
- Въз основа на резултатите от този преглед ПРУ трябва да обсъди необходимостта от актуализиране на информацията за продукта и/или да представи план за управление на риска за Suboxone.

2. Имайки предвид наличните данни в EudraVigilance (EV) и в литературата относно сигнали за серотонинов синдром асоцииран с взаимодействието между **комбинацията *buprenorphine/naloxone* и други серотонинергични лекарства**, PRAC се съгласява допълнително да извърши анализ на базата данни в EV на серотонинов синдром асоцииран с взаимодействие на ***buprenorphine*** **като самостоятелна активна съставка и други серотонинергични лекарства**.

V. ОБСЪЖДАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Серотонинов синдром е възможно да се наблюдава като резултат на предозиране на серотонинергични лекарства или на взаимодействия при комбинирано прилагане на две или повече лекарства, повишаващи синаптичната концентрация на серотонин. Сред всички серотонинергични медикаменти, антидепресантите са най-честите причинители на серотонинов синдром, като най-често се докладва участието на SSRIs и в по-малка степен SNRIs, ТЦА и МАО-инхибиторите. [2]

През 2016 г. FDA публикува съобщение касаещо лекарствената безопасност (drug safety communication, DSC) относно риска от развитие на серотонинов синдром при едновременната употребата на опиоиди с други лекарства, особено антидепресанти и лекарства за лечение на мигрена. [28, 164, 165]

Това съобщение се появява няколко години след като още през 2009 г. FDA сигнализира за проблеми свързани с безопасността на приложение на някои опиоидни аналгетици като *tramadol*, *tapentadol* и *pethidine*, което е насочило вниманието към потенциалния риск от развитие на серотонинов синдром в резултат на лекарствени взаимодействия. Това от своя страна е наложило нанасянето на корекции в КХП и ЛП за съответните продукти. [164]

Още повече, анализ на регистрираните случаи на серотонинов синдром във френската база данни за проследяване на лекарствената безопасност посочва, че най-честата лекарствена комбинация асоциирана с развитието на серотонинов синдром е тази между антидепресантите от групата на SSRIs и опиоидните аналгетици. [2]

Серотониновият синдром се характеризира с триада от симптоми, включващи нарушения на психичния статус, автономна дисрегулация и невромускулна хиперреактивност. Счита се, че изявата на синдрома при животни наподобява тази при хора. Прояви на серотонинова токсичност са описани при различни животински видове като кучета [166–168], зайци [169, 170], котки [167], морски свинчета [171, 172], маймуни [173–175], гълъби [169] и др. Въпреки това, най-много литературни данни, респективно най-много проучвания, има върху развитието на серотонинов синдром при мишки и плъхове. [146]

В литературата са описани два класически модела на серотонинов синдром у плъхове индуцирани чрез комбинирането приложение на серотонинергични вещества с различен механизъм на действие: 5-HTP (100 mg/kg i.p.) – прекурсор на серотонин и clorgyline (2 mg/kg i.p.) – селективен MAO-A инхибитор [33] и fluoxetine (10 mg/kg i.p.) – селективен инхибитор на невроналното захващане на серотонин и tranylcypromine (3,5 mg/kg, i.p.) – неселективен MAO инхибитор. [31]

Нашите изследвания потвърждават появата на описаните в литературата поведенчески симптоми на серотонинов синдром при плъхове като най-изразена проява беше наблюдавана при модела на серотонинов синдром индуциран от приложението на *5-HTP* и *tranylcypromine*.

Сред поведенческите реакции най-рано, до 30 мин., се наблюдаваха тремор, ниска стойка на тялото, феномен на Straub и „wet dog shake“. Счита се, че тези симптоми съответстват на наблюдаваната у хора със серотонинов синдром, невромускулна хиперреактивност с прояви на повишен мускулен тонус, миоклонус, клонус и др. [7, 16]. При всички животни беше отчетена хиперактивност отговаряща на описваните при хора със серотонинов синдром нарушения в менталния статус. [7, 16]

Лимитациите на нашето изследване се изразяват в леко изразена принудителна фиксация на експерименталните животни, необходима за отчитане на ректалната им температура. Поради това, не беше възможно да се отчетат симптоми на серотонинов синдром проявяващи се при свободно движение на животните като тъпчене с предните лапи, отвеждане на задния крайник, движение назад и др.

Описаните в литературата автономни прояви на серотонинов синдром при плъхове включват промяна в телесната температура, пилоерекция, саливация, екзофталм, ерекция и ретракция на долната устна и диария. [146] Анализът на Haberzettl et al. показва, че най-честата проява на автономна дисрегулация наблюдавана при плъхове със серотонинов синдром е промяната в телесната температура.

Това се потвърждава от нашите изследвания, при които повишаване на телесната температура на животните беше отчетено при всички експериментални модели на серотонинов синдром. Според John Hopkins University, за нормална телесена температура при плъхове се приема температурата между 35.9ºC и 37.5ºC. [176] Ние отчетохме покачване на телесна температура до 41.58ºC при модела на серотонинов

синдром индуцират от комбинираното приложение на прекурсура на серотонин *5-HTP* и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*.

Въпреки разнообразието от поведенчески и автономни прояви характерни за проявата на серотонинов синдром при плъхове, именно хипертермията е отговорна за смъртността, която се описва при експерименталните животни.

В нашето изследване, инжектирането на прекурсура на серотонин 5-HTP и селективния МАО-А инхибитор *clorgyline* предивика смърт на всички експериментални животни между 60 и 90 мин. Летален изход беше наблюдаван и при едно от експерименталните животни инжектирано с прекурсура на серотонин 5-HTP и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*. При модела на серотонинов синдром индуциран от приложението на селективния инхибитор на обратното захващане на серотонин *fluoxetine* и неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*, въпреки развитието на хипертермия, всички животни оцеляха до края на експеримента.

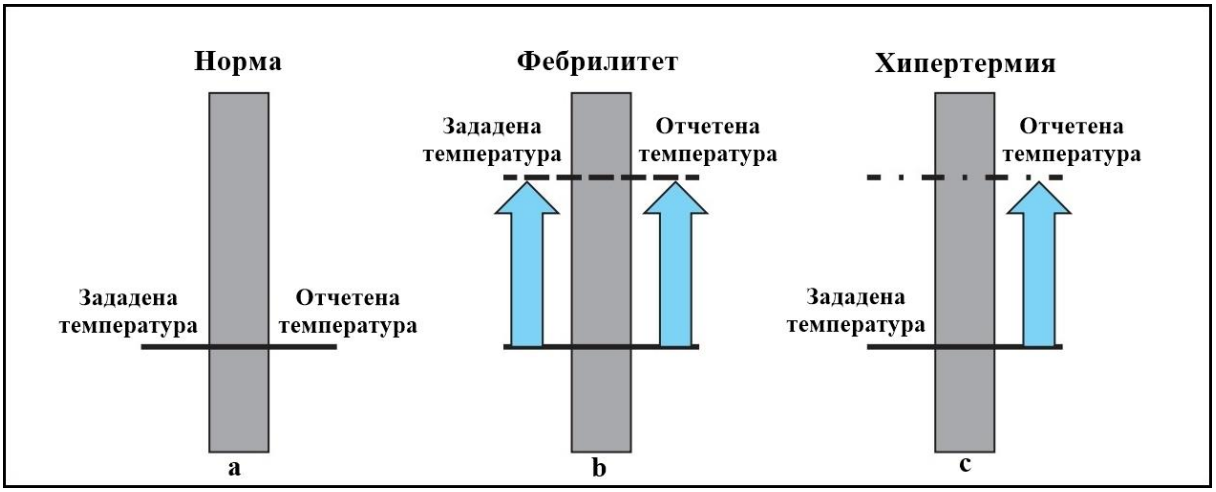
Както при животни, така и при хора, хипертермията е една от най-тежките автономни прояви на серотонинов синдром. [2, 5] Макар и не задължителен симптом, тя се наблюдава при тежките форми на серотонинов синдром и се свързва с лоша прогноза. Усложнения като бъбречна недостатъчност, гърчове, ДИК и др. наблюдавани при серотонинов синдром се дължат именно на развитието на хипертермия и нейното неадекватно лечение. [7]

Точно установена дефиниция на термина „хипертермия“ не съществува. Често тя се отъждествява с термина „фебрилитет/треска“. И двата термина описват състояние на повишена телесна температура. [141, 177, 178] Въпреки това, механизмът им на развитие и тяхното лечение, съществено се различават.

Поддържането на телесна температура в тесни граници е жизненоважно за оцеляването на всички бозайници, включително хората. [142] Телесната температура при човек се регулира от хипоталамуса и за нормална се приема температура от около 37 °C, въпреки че при здрави индивиди тя може да варира с до 1°C. [141] Хипоталамусът определя т.нар. “set point” или зададената нормална телесна температура. Някои състояния обаче могат да променят така зададения “set point”. Този патофизиологичен механизъм лежи в основата на развитието на

фебрилитет или треска. Фебрилитетът (треска) се дефинира като процес, при който телесната температура се повишава (≥ 38.3 °C) в резултат от промяна в зададената температура (“set point”) в хипоталамуса в отговор на действието на инфекциозни или неинфекциозни причинители. [179–182]

За разлика от фебрилитета, при хипертермията се развива хиперметаболитно състояние, при което няма промяна в зададената (“set point”) от хипоталамуса температура. Тялото се опитва да изравни повишената телесна температура до нормално зададената от хипоталамуса, но механизмите на охлаждане не успяват да се справят (фигура 11). [178] Разликите в патофизиологичните механизми на развитие на тези две състояния определят и различните подходи за лечение. Стандартните антипиретици, които се използват при фебрилитет (треска) понижават патологично повишената зададена температура в хипоталамуса (“set point”). Именно заради това, те се оказват неефективни в лечението на хипертермия, при която промяна в температурния “set point” няма. [178]



Фигура 11. Разлика между фебрилитет и хипертермия

(Модификация по Miyake Y., *Pathophysiology of Heat Illness: Thermoregulation, risk factors, and indicators of aggravation*) [178]

При нормални условия зададената от хипоталамуса температура (“set point”) и действителната отчетена от тялото температура са равни (a). При фебрилитет, телесната температура се повишава, тъй като зададената от хипоталамуса температура (“set point”) се повишава (b). При хипертермия, тялото се опитва да понижи температурата до нормално заденатa от хипоталамуса (“set point”), но механизмите на охлаждане не успяват да се справят (c).

Предполага се, че хипертермичната реакция, наблюдавана при серотонинов синдром е свързана основно с активиране на 5-HT_{2A}-рецепторите. [33, 183] Експериментални изследвания потвърждават участието на 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите в терморегулацията при плъхове. Така например, блокадата на 5-HT_2 рецепторите от *ketanserin* или *pirenperone* предизвиква понижаване на телесната температура, докато блокирането на 5-HT_{1A} рецепторите от *pindolol* резултира в повишаване на телесната температура. [184]

Това се потвърждава от нашите резултати, които показват, че предварителното прилагане на *cyproheptadine* и атипичните антипсихотици *asenapine* (в доза 0,6 mg/kg, i.p.), *olanzapine* (в доза 5 mg/kg, i.p.) и *risperidone* (в доза 1 mg/kg, i.p.) инхибира хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром.

Cyproheptadine е антихистамин от първо поколение наличен под формата на таблетки и сироп за орално приложение, който освен H_1, блокира мускариновите (M_1, M_2, M_3) и серотонинвоите (5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} и 5-HT_7) рецептори. [132, 185–187] Мултирецепторното действие на *cyproheptadine*, обяснява разнообразното му клинично приложение: при алергични състояния, сърбеж, като стимулатор на апетита, при хиперкинетични състояния на ГИТ като синдром на бързото изпразване на стомаха (dumping syndrome) и др. [185–188]

Въпреки че не е клинично одобрен, *cyproheptadine* е едонственият медикамент, който се използва "off label" в практиката за лечение на серотонинов синдром и асоциираната с него хипертермия. [7] Недостатък на *cyproheptadine* е, че е достъпен само в перорална форма, което ограничава използването на лекарството, ако пероралният прием не е възможен или вече е приложен активиран въглен.

Проучвания доказват, че *cyproheptadine* ефективно повлиява хипертермичната реакция при експериментален модел на серотонинов синдром. Още повече, сравнително изследване доказва, че за разлика от останалите 5-HT_2 антагонисти, той превентира както развитието на серотонинов синдром, така и смъртността на експерименталните животни. [33, 132]

Това се потвърждава и от нашите резултати, които демонстрират блокиране на хипертермичната реакция от *cyproheptadine* при експериментален серотонинов синдром.

Повечето атипични антипсихотици проявяват своето действие предимно чрез блокиране на 5-HT_2 рецепторите. За разлика от класическите (типични) антипсихотици, чиято класификация се основава на химичната им структура (фенотиазини, тиоксантени, бутирофенони и др.), класифицирането на атипичните антипсихотици се базира предимно на техния фармакодинамичен профил [189]. Това разделение отразява и съществените разлики в афинитета на отделните представители антипсихотици към различни рецептори – серотонинови (5-HT_{1-7}), допаминови (D_{1-5}), адренергични (α_{1-2}, β_{1-2}), мускаринови (M_{1-5}), хистаминови (H_1) и др.

Olanzapine и *asenapine* се класифицират като мултирецепторно действащи антипсихотици (multi-acting receptor-targeted antipsychotics, MARTA), които освен

към серотониновите и допаминовите рецептори, проявяват афинитет и към рецептори от други системи (мускаринови, хистаминови и др.). [189]

Olanzapine е тиенобензодиазепинов дериват структурно близък до *clozapine* и е показан за лечение на шизофрения, остра мания и биполярно афективно разстройство. Наличен е в орална форма и депо форма за мускулно приложение. *Olanzapine* проявява по-голяма блокираща активност към 5-HT_{2A}, отколкото към D_2. За разлика от други атипични антипсихотици *olanzapine* блокира и редица други рецептори като проявява висок афинитет към серотонинергичните (5-HT_{2C}, 5-HT_3 и 5-HT_6) и хистаминовите (H_1) рецептори; умерен към допаминовите (D_1 – D_5) и мускариновите (M_1 – M_5); и слаб към адренергичните (α_1 и α_2). [189]

Asenapine, наличен под формата на лингвети, е атипичен антипсихотик одобрен от EMA за лечение на биполярно разстройство, а от FDA за лечение и на шизофрения. [190] Asenapine проявява афинитет към почти всички серотонинови рецептори: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT_5, 5-HT_6 и 5-HT_7. Проявява афинитет още към допаминовите (D_1, D_2, D_3, D_4), адренергичните (α_1, α_{2A}, α_{2B}, α_{2C}) и хистаминовите (H_1 и H_2) рецептори, но има минимално действие върху мускариновите рецептори. [189]

За разлика от *asenapine* и *olanzapine, risperidone* се класифицира като серотонин-допаминов антагонист (serotonin-dopamine antagonist, SDA) и е първият атипичен антипсихотик произведен в депо форма за мускулно приложение показан за лечение на шизофрения и биполярно афективно разстройство. [189] *Risperidone* представлява бензизоксазолово производно с изразена селективност към 5-HT_{2A} и D_2 рецепторите и съотношение 5-HT_{2A}/D_2 около 20. Освен това *risperidone* притежава висок афинитет и към адренергичните (α_1 и α_2) рецептори, но нисък афинитет за хистаминовите (H_1) рецептори. [191]

В допълнение, *olanzapine* и *asenapine* в нашето изследване предизвикаха обръщане на хипертермичната реакция, предизвикана от комбинираното приложение на серотонинергичните вещества (fluoxetine и tranylcypromine) в хипотермична.

Температурната дисрегулация е документирана странична реакция на антипсихотичните лекарства. [192–196] Най-често тя се изразява в развитие на хипертермия, животозастрашаващ симптом характерен за малигнения

невролептичен синдром (МНС). Данни от различни клинични случаи, обобщени в последните години от van Marum [192] и Zonnenberg [193, 194] показват, че приложението на класически или атипични антипсихотици крие риск от развитие и на друга, по-рядко документирана НЛР, а именно хипотермия. При хора, хипотермията се дефинира като телесна температура под 35 °C разграничавайки три степени: лека (33 – 35 °C), умерена (28 – 33 °C) и тежка (< 28°C) хипотермия. [193]

Въпреки че хипотермичният ефект на антипсихотиците е по-малко познат от хипертермичния изразяващ се в МНС, анализ на литературните данни показва, че са налични почти равен брой доклади за хипотермия (480 случая) и хипертермия (524 случая) асоциирана с приложението на антипсихотици. Zonnenberg et al. считат, че реалната честота на хипотермия свързана с употребата на антипсихотици е поне 10 пъти по-висока от документираната. [193] За първи път развитието на хипотермия след употребата на антипсихотични лекарства е описано от Loughnane при 26 годишна пациентка на терапия с *chlorpromazine*. [197]

Анализите на van Marum et al. и Zonnenberg et al. посочват, че хипотермията най-често се наблюдава седмица след започване на терапията с антипсихотик или след повишаване на дозата му. Те посочват още, че по-често се касае за употреба на атипични антипсихотици (приблизително 55 % от случаите), сред които най-често се докладва участието на *risperidone*. [192, 193, 198] Лека степен на хипотермия, свързана с приложение на ниска доза *risperidone* е наблюдавана и при дете с вербално и физическо агресивно поведение. [199]

От направените от van Marum и Zonnenberg анализи става ясно, че антипсихотици с по-голям афинитет за блокиране на 5-HT_{2A}, отколкото D_2 рецепторите, по-често са асоциират с развитие на хипотермия. Блокиране на перфиерните α адренергични рецептори също може да играе роля в засилване на хипотермичния ефект като се инхибира активирането на периферните механизми при охлаждане (вазоконстрикция и треперене). [193] Това може да обясни високата честота на докладвани случаи на хипотермия след приложение на *risperidone* – атипичен антипсихотик с изразена 5-HT_{2A} и изразена α блокираща активност.

Различни експериментални изследвания посочват ролята на 5-HT_2-рецепторите в участието на температурната дисрегулация характерна за атипичните антипсихотици, а други изследвания при плъхове съобщават за развитие на

различен температурен отговор при антипсихотичните лекарства в зависимост околната температура: при температура под 22 °C се развива хипотермия, при 29 °C няма промяна в температурния отговор, а при 32 °C се развива хипертермия. [200, 201]

Експерименталните и клиничните изследвания показват, че атипичните антипсихотици *olanzapine* и *risperidone* предизвикват понижаване на телесната температура и посочват, че механизмът на хипотермичното действие е свързано с блокиране на 5-HT_2-рецепторите. [196, 198, 199, 202]

Сред всички 5-HT_2-рецепторни антагонисти, най-добре проучена и доказана при серотонинов синдром е ефективността на *cyproheptadine*. Поради това, ние сравнихме ефекта на по-слабо изследвания атипичен антипсихотик *olanzapine* и неизследвания при това състояние атипичен антипсихотик *asenapine* с ефекта на *cyproheptadine* при експериментален модел на серотонинов синдром.

Резултатите от настоящето проучване показват, че предварителното прилагане на *asenapine* (в доза 0.6 mg/kg, i.p.) или *olanzapine* (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлияха хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром у плъхове, сравнимо с ефекта на *cyproheptadine*.

Освен 5-HT_2 блокиращия механизъм, вероятно *asenapine* повлиява хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром по комплексен начин и по-специфично чрез стимулиране на 5-HT_{1A} рецепторите.

Трябва да се отбележи, че серотонинът има различен афинитет за 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите. Счита се, че той е 400 до 1000 пъти по-голям за 5-HT_{1A}, отколкото за 5-HT_{2A}. [146, 159, 203, 204] Например, след комбинирано приложение на прекурсора на серотонин *5-HTP* и MAO-A инхибитора *clorgyline*, телесната температура на плъховете се променя в зависимост от дозата на веществата. По-конкретно, хипотермия се наблюдава след прилагане на по-ниски дози, докато хипертермия се наблюдава при по-високи дози. [149, 205]

Инжектирането на серотонинергичните вещества в ниски дози води до по-слабо покачване на нивата на серотонин, с което биват окупирани предимно 5-HT_{1A} рецепторите, които медиират хипотермична реакция. Въвеждането на серотонинергичните вещества в по-високи дози води до покачване на нивата на

серотонин, при което доминира активирането на 5-HT_{2A} рецепторите, предизвикващо развитието на хипертермична реакция.

Тези данни, както и резултатите от нашето проучване могат да допринесат за изясняване механизма на действие на *asenapine* и предизвикания от него хипотермичен ефект при експериментален серотонинов синдром.

Резултатите от нашето проучване показват още, че предварителното приложение на *propranolol* (в доза 10 mg/kg, i.p.) ефективно повлиява хипертермичната реакция при модел на серотонинов синдром.

Propranolol е неселективен бета блокер, който проявява и 5-HT_{1A}-блокиращо действие. Експериментални изследвания показват, че *propranolol* ефективно потиска развитието на хипертермична реакция при модел на серотонинов синдром индуцран от приложението на *5-HTP* и *clorgyline*. Въпреки това, данните сочат, че *propranolol* не подбрява преживяемостта на експерименталните животни при този модел на серотонинов синдром. [33]

Предполага се, че съществува функционално взаимодействие между 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторите при плъхове. [33, 146]

Това се потвърждава от нашето изследване, при което *propranolol*, който е и 5-HT_{1A}-антагонист, предотврати появата на поведенческите и автономните симптоми на серотонинов синдром медиирани както от 5-HT_{1A}, така и от 5-HT_{2A} рецепторите.

Освен серотонинергичната медиация, счита се, че и други медиаторни системи взимат участие в терморегулационните процеси. Така например, ГАМК е основен централен инхибиторен невротрансмитер, който участва още и в процесите на терморегулация. Потенциране на централното инхибиращо действие на ГАМК се постига по няколко различни механизма, включващи алостерично модулиране на $ГАМК_A$-рецепторите (бензодиазепини, барбитурати, Z-лекарства), директно $ГАМК_A$- или $ГАМК_B$-рецепторно агонистично действие (*muscimol, baclofen*), увеличен синтез на ГАМК (*gabapentin, pregabalin, sodium valproate*), потискане на ензимното разграждане на ГАМК (*vigabatrin, sodium valproate*) и инхибиране на невроналния и глиалния ъптейк на ГАМК (*tiagabine*). При централно и системно приложение на *diazepam*, и *vigabatrin* е установено доза-зависимо понижаване на телесната температура у плъхове. [206–209] Предполага се, че ГАМК-индуцираната

хипотермия се медиира чрез активиране на $GABA_A$- и/или активиране на $GABA_B$-рецепторите. [140, 210] Хипотермичният ефект на *vigabatrin* настъпват по-късно в сравнение с индуцираната от *diazepam* хипотермия, което може да бъде обяснено с индиректния им механизъм на потенциране на ГАМК-ергичната медиация.

Ние допускаме, че в повлияването на хипертермията при серотонинов синдром от ГАМК-ергични вещества освен директни ГАМК-ергични механизми са включени и взаимодействия между невротрансмитери или медиаторни системи. Пресинаптично локализираните $GABA_B$-рецептори повлияват освобождаването на норадреналин, допамин и 5-хидрокситриптамин. [211] Установена е експресия предимно на $GABA_{B(1)}$-рецептори в повечето от серотонин-ергичните и катехоламин-ергичните неврони в ядрата на мозъчния ствол, които участват в регулацията на автономните функции. [212] Взаимодействията между GABA-ергичната и серотонин-ергичната система се осъществяват посредством пресинаптично хетерорецепторно $GABA_B$-инхибиране на освобождаването на 5-НТ или посредством G-протеин-куплирано взаимодействие между $5\text{-}HT_{1A}$ и $GABA_B$-ергичните рецептори. [213]

Нашите изследвания установиха, че веществата с ГАМК-ергичен механизъм на действие *diazepam* и *vigabatrin* ефективно понижават хипертермичната реакция при експериментален серотонинов синдром у плъхове. Намаляването на хипертермията, индуцирана от серотонин-ергични вещества при предварителното прилагане на ГАМК-миметици най-вероятно се дължи на повишаването на централната ГАМК-ергична невротрансмисия чрез директно активиране на $ГАМК_A$-рецепторите (*diazepam*), както и чрез непряко действие посредством увеличаване на синаптичната концентрация на ГАМК (*vigabatrin*). Ефектите на изследваните ГАМК-миметици върху хипертермията, свързана със серотонинов синдром са в подкрепа на хипотезата за взаимодействие между ГАМК-ергичната и серотонинергичната система в процесите на терморегулация.

Литературните данни от последните години сочат, че най-често срещаната лекарствена комбинации водеща до развитието на серотонинов синдром е тази между антидепресанти и опиоиди. [2] Опиоидните аналгетици са едни от най-често изписваните лекарства в както в болнична среда, така и в амбулаторни условия. Те могат да предизвикат серотонинов синдром когато бъдат комбинирани с други серотонинергични медикаменти или когато биват приложени самостоятелно във

високи дози. [28, 81, 145, 214–218] Доказано е, че *pethidine*, *tramadol*, *methadone* и други синтетични опиоиди инхибират функцията на SERT in vitro [145].

Експериментални изследвания при животни предоставят важна информация относно опиоид индуцирания ефлукс на серотонин в ЦНС. [219] Те показват, че различните представители на опиоидите проявяват различен серотонинергичен механизъм на действие.

Докато μ- и δ- опиоидните агонисти предизвикват освобождаване на серотонин от dorsal raphe nucleus, те нямат ефект върху освобождаването на серотонин в median raphe nucleus или в nucleus accumbens. [219] За разлика от тях, κ-опиоидните агонисти произвеждат локално намаление на серотонина и в трите области на мозъка. Освен това изследователите откриват, че *morphine* (предимно μ-опиоиден агонист) не стимулира директно серотонергичните неврони. [220] Вместо това, той индиректно стимулира освобождаването на серотонин чрез активиране на опиоидни рецептори в ГАМК-ергичните и глутаматергичните неврони в dorsal raphe nucleus. [221]

Въпреки нарастващите клинични данни за комбинирано приложение на опиоиди и антидепресанти довело до развитие на серотонинов синдром, експериментални проучвания изследващи взаимодействието между двете фармакологични групи и потенциала за развитие на серотонинов синдром липсват.

Единствените проведени досега експерименти при животни са на Fox et al. (2009). [104, 145] Екипът учени изследва потенциала за развитие на серотонинов синдром на някои опиоиди със серотонинергичен механизъм на действие (*tramadol*, *pethidine* и *morphine*) приложени самостоятелно на SERT нокаут мишки (SERT -/-), хетерозиготен тип (SERT +/-) и див тип (SERT +/+) мишки.

Резултатите показват, че с изключение на *morphine*, останалите изследвани опиоиди (*tramadol* и *pethidine*), индуцират проявата на серотонинов синдром подобни симптоми, но предимно при мишките дефицитни на един (+/-) или два (-/-) гена за SERT. [104]

В допълнение, за да изследва потенциалния механизъм на индуциране на серотонинов синдром характерен за *tramadol*, екипът използва 5-HT_{1A} рецепторния

антагонист WAY 100,635, който бива инжектиран на мишките минути преди приложението на *tramadol.*

Резултатите показват, че предварителното приложение на 5-HT_{1A} рецепторния антагонист WAY 100,635 предотвратява появата на симптоми на серотонинов синдром при мишките дефицитни на един (+/-) или два (-/-) гена за SERT, но не и при дивия тип мишки (+/+).

Фактът, че *tramadol* индуцира симптоми характерни за серотонинов синдром при (+/-) и (-/-) мишки, но 5-HT_{1A} рецепторния антагонист предотвратява развитието на серотонинов синдром само при тези дефицитни и на двата гена (-/-), предполага, че зад развитието на серотонинов синдром предизвикан от *tramadol*, вместо самостоятелно активиране на постсинаптичните 5-HT_{1A} рецептори стои по-комплексен механизъм на действие.

Tramadol е възможно да индуцира серотонинов синдром при (+/-) мишки, като блокира SERT, увеличавайки извънклетъчните нива на серотонин, вместо директно да активира постсинаптичните 5-HT_{1A} рецептори, което изглежда е в основата на този отговор в (-/-) мишки. [104]

Кличните данни сочат, че най-честата лекарствена комбинация водеща до развитие на серотонинов синдром е тази между антидепресанти и опиоидни аналгетици, сред които най-често докладван е *tramadol*. [2] Поради това, ние решихме да изследваме експериментално у плъхове потенциала за развитие на серотонинов синдром след като *tramadol* е бил приложен едновременно с други серотонинергични вещества: прекурсора на серотонин *5-HTP* или неселективния МАО инхибитор *tranylcypromine*.

В нашето изследване комбинираното приложение на *tramadol* (20 mg/kg i.p) с *tranylcypromine* (3,5 mg/kg i.p.) или с *5-HTP* (100 mg/kg i.p.) доведе до покачване на ректалната температура на експерименталните животни. Наблюдавани бяха и някои симптоми като пилоерекция и феномен на Straub, който бе отчетен като симптом неспецифичен за серотонинов синдром, имайки предвид, че опиоидите самостоятелно могат да предизвикат такъв. Други поведенчески симптоми характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове не бяха наблюдавани.

Изборът на доза от 20 mg/kg бе направен по литературни данни за приложение на tramadol при плъхове с цел аналгезия, която варира от 20 mg/kg до 50 mg/kg. [222, 223] В нашето изследване ние приложихме най-ниската описана доза на *tramadol* за да се редуцира риска от развитието на седация асоциирана с приложението на по-високите дози опиоидни аналгетици, което би компрометирало проявата и изследването на поведенчески и автономни реакции характерни за развитието на серотонинов синдром у плъхове.

Това може да обясни липсата на други проявени симптоми, както и по-слабото повишаване на телесната температура спрямо тази наблюдавана при останалите изработени от нас модели на серотонинов синдром (5-HTP и clorgyline; 5-HTP и tranylcypromine; fluoxetine и tranylcypromine).

Значимостта на различни лабораторни показатели в потвърждаване на диагнозата серотонинов синдром е била проучвана и изследвана. Въпреки разнообразната клинична изява, няма специфичен лабораторен показател, който да потвърди диагнозата серотонинов синдром. [7] Неспецифични отклонения включват електролитни нарушения, метаболитна ацидоза, повишен креатинин и повишени нива на серумната аминотрансфераза. Те се свързват с поишения мускулен тонус и възможна рабдомиолиза наблюдавани при някои от тежките форми на серотонинов синдром. [224–226] Изглежда концентрацията на серотонин в кръвта не корелира с тежестта на заболяването, тъй като в действителност тя не отразява интрасинаптичната концентрация на серотонин. В нашите изследвания, ние също не установихме повишена концентрация на серотонин в серума на експерименталните животни, въпреки наличието на значително изразени поведенчески и автономни прояви.

VI. ИЗВОДИ

1. При комбинирано системно приложение на антидепресанти (*5-HTP* и *clorgyline*; *5-HTP* и *tranylcypromine*; *fluoxetine* и *tranylcypromine*) у плъхове се предизвиква серотонинов синдром с характерни поведенчески и автономни реакции.
2. При предварително въвеждане на изследваните ГАМК-ергични средства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти се установява редуциране на проявите на серотонинова токсичност у плъхове.
3. Предварително въвеждане на изследваните ГАМК-ергични средства или 5-HT_2-рецепторни антагонисти намалява хипертермичната реакция, която се развива при изследваните експериментални модели на серотонинов синдром.
4. Серотониновите антагонисти *olanzapine* и *asenapine* обръщат хипертермичната реакция, индуцирана при комбинирано приложение на антидепресанти в хипотермична.
5. *Asenapine* и *olanzapine* показаха ефективно повлияване на хипертермичната реакция, сравнимо с ефекта на *cyproheptadine*.
6. При направения от нас анализ на лекарствени продукти съдържащи антидепресанти и опиоиди разрешени по национална процедура се установяват регулаторни пропуски, които ще бъдат докладвани до ИАЛ и PRAC за своевременно предприемане на адекватни регулаторни промени.

VII. ПРИНОСИ

Постигнатите резултати имат фундаментален характер, но със значение за терапевтичната практика, тъй като някои лекарства с ГАМК-ергичен механизъм на действие (напр. анксиолитици, антиконвулсанти) показват ефективно повлияване на някои от симптомите на серотонинов синдром, включително хипертермията. Освен това изследваните в настоящото проучване *fluoxetine* (SSRI) и *tramadol* (опиоиден аналгетик) се използват широко в клиничната практика, а прилаганите за повлияване на серотонинов синдром 5-HT_2-рецепторни антагонисти *olanzapine*, *risperidone* и *asenapine* имат друго основно предназначение (антипсихотици).

В методологичен аспект използваните експериментални методи могат да бъдат прилагани при изследване на лекарства с терапевтичен потенциал при серотонинов синдром.

В приложно-научен аспект е възможно да бъдат проучени нови фармакологични подходи за повлияване на лекарствено индуцирана хипертермия, която не се повлиява от прилагането на класически антипиретици. Изследването на нови подходи и механизми за повлияване на хипертермията има голямо значение за клиничната практика, защото резултат на хипертермичните състояния могат да бъдат редица усложнения като церебрална или когнитивна дисфункция, коагулопатия, чернодробна и бъбречна недостатъчност, рабдомиолиза и увреждане на клетките.

Основни приноси с фундаментален или приложно-научен характер са:

1. Установяване на ефективно повлияване на лекарства-предизвикан серотонинов синдром от прилагането на ГАМК-ергичните лекарства *diazepam* и *vigabatrin*.
2. Установяване на ефективно повлияване на лекарства-предизвикан серотонинов синдром от прилагането на 5-HT_2-рецепторни антагонисти (*olanzapine*, *risperidone* и *asenapine*).
3. Терапевтични подходи за повлияване на хипертермичната реакция при серотонинов синдром чрез прилагане на 5-HT_2-рецепторни антагонисти (*olanzapine* и *asenapine*) или лекарства повишаващи централния инхибиращ ефект на ГАМК (*diazepam* и *vigabatrin*).

4. Терморегулаторните промени с предлагания метод за верификация са адекватен подход за обективизиране на сериозни НЛР, от които водещи са промените в телесната температура. Известно е, че този метод е задължителен при предклиничното токсикологично изследване на нови лекарствени молекули и при изследването за пирогенност на лекарствени продукти предназанчени за паренетрално приложение.
5. За първи път е направен анализ за риска от развитие на серотонинов синдром при употребата на антидепресанти и опиоиди в лекарствени продукти разрешени по централизирана и национална процедура.
6. Установените пропуски дадоха основание за изготвяне на препоръки докладвани на ИАЛ и Комитета по лекарствена безопасност за своевременно предприемане на адекватни регулаторни промени съобразно направените от нас изводи.

VIII. ПУБЛИКАЦИИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. **Koleva K**, R. Nikolov; Antidepressants-induced serotonin syndrome: Literature review; PHARMACIA, vol. 65, No. 1/2018

2. **K. Koleva**, S. Marchev, R. Nikolov, L. Todorova, S. Surcheva, M. Vlaskovska. Experimental and regulatory studies on adverse effects of some antidepressants in elderly. In: 14th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), 29 June – 2 July 2019, Stockholm, Sweden; European Journal of Clinical Pharmacology (2019) 75 (Suppl 1): S1–S110, EACPT-1380, **IF=2,641**

3. **Колева К**, Николов Р. Поведенчески, соматични и автономни прояви при експериментален модел на серотонинов синдром. Медицински преглед, vol. LVI, 2020, №3

4. R.P. Nikolov, **K.N. Koleva**, M.H. Hristov, K.S. Yakimova. Hyperthermia in experimental models of the serotonin syndrome: influence of vigabatrin. Bulgarian Chemical Communications. Vol. 52, Issue 1 (pp. 138-141) 2020

5. **Koleva K**, Pavlov O, Nikolov R, Behr R. Deep brain stimulation as a possible treatment of hyperthermia in patients with serotonin syndrome. Medical Hypotheses. 2020; 139:109704, **IF=1,375**

6. **Koleva K**, L. Todorova, S Marchev, M Vlaskovska, R Nikolov; Pharmacovigilance: procedures for uniform assessment of periodic safety update reports and their implementation in national settings. Focus on analgesics; PHARMACIA (in press)

IX. УЧАСТИЯ В НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ КОНГРЕСИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Toteva Silvia, **K. Koleva**, G. Bogdanov, R. Nikolov. *„Effects of olanzapine on hyperthermia in an experimental serotonin syndrome“*, 17th International Congress of Medical Sciences (ICMS), 2018, София, България

2. **К. Колева**, Р. Николов. *„Ефект на 5-HT2-антагонисти върху хипертермия при експериментален серотонинов синдром у плъхове“*, Национална научна конференция “15 години фармация в Медицински университет – Пловдив”, 2018, Девин , България

3. **Kalina Koleva**, Stanislav Marchev, Lubina Todorova, Slavina Surcheva, Mila Vlaskovska, Rumen Nikolov. *„Experimental and regulatory studies on adverse effects of some antidepressants in elderly“*, 14th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT), 29 юни – 2 юли 2019, Стокхолм, Швеция

4. R. Nikolov, **K. Koleva**, M. Hristov, K. Yakimova. *„Hyperthermia in experimental models of the serotonin syndrome: influence of vigabatrin”*, Neuroscience, bioinformatics, microbiome and beyond, 17-19 септември 2019, Бачиново, България

5. **К. Колева**, Р. Николов. *„Експериментални модели на серотонинов синдром у плъхове”*, Юбилейна научна конференция – 45 години на висшето училище в Плевен, 31.10 - 02.11.2019, Плевен, България

6. **Колева К**, Богданов Г, Николов, Р. *„Фармакологично повлияване на хипертермичната реакция при експериментални модели на серотонинов синдром“*, Конгрес по фармация с международно участие, 21-24 ноември 2019, Боровец, България

7. **K. Koleva**, M. Hristov, G. Bogdanov, R. Nikolov. *“Effect of asenapine in rat serotonin syndrome”*, The 36th Balkan Medical Week, 24-26 септември 2020, Букурещ, Румъния

БИБЛИОГРАФИЯ

1. OATES, J. A., & SJOERDSMA, A. (1960). Neurologic effects of tryptophan in patients receiving a monoamine oxidase inhibitor. Neurology, 10, 1076–1078.
2. Abadie, D., Rousseau, V., Logerot, S., Cottin, J., Montastruc, J. L., & Montastruc, F. (2015). Serotonin Syndrome: Analysis of Cases Registered in the French Pharmacovigilance Database. Journal of clinical psychopharmacology, 35(4), 382–388.
3. Arora, B., & Kannikeswaran, N. (2010). The serotonin syndrome-the need for physician's awareness. International journal of emergency medicine, 3(4), 373–377.
4. Werneke, U., Jamshidi, F., Taylor, D. M., & Ott, M. (2016). Conundrums in neurology: diagnosing serotonin syndrome - a meta-analysis of cases. BMC neurology, 16, 97.
5. Watson, W. A., Litovitz, T. L., Klein-Schwartz, W., Rodgers, G. C., Jr, Youniss, J., Reid, N., Rouse, W. G., Rembert, R. S., & Borys, D. (2004). 2003 annual report of the American Association of Poison Control Centers Toxic Exposure Surveillance System. The American journal of emergency medicine, 22(5), 335–404.
6. Volpi-Abadie, J., Kaye, A. M., & Kaye, A. D. (2013). Serotonin syndrome. The Ochsner journal, 13(4), 533–540.
7. Boyer, E. W., & Shannon, M. (2005). The serotonin syndrome. The New England journal of medicine, 352(11), 1112–1120.
8. Ables, Adrienne & Nagubilli, Raju. (2010). Prevention, Diagnosis, and Management of Serotonin Syndrome. American family physician. 81. 1139-42.
9. Best, J., Nijhout, H. F., & Reed, M. (2010). Serotonin synthesis, release and reuptake in terminals: a mathematical model. Theoretical Biology & Medical Modelling, 7, 34.
10. Bader M. (2020). Inhibition of serotonin synthesis: A novel therapeutic paradigm. Pharmacology & therapeutics, 205, 107423.
11. Rapport, M. M., Green, A. A., & Page, I. H. (1948). Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum. The Journal of Biological Chemistry, 174, 735–741.
12. Vialli, M., & Erspamer, V. (1937). Ricerche sul secrete delle cellule enterocromaffini. IX. Intorno alla natura chimica della sostanza specifica. Boll. Soc. med. -chir. Pavia, 51, 1111–1118.
13. Erspamer, V., & Asero, B. (1952). Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. Nature, 169,800–801.

14. Twarog, B. M., & Page, I. H. (1953). Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. The American Journal of Physiology,175, 157–161.
15. Bortolato, Marco & Chen, Kevin & Shih, Jean. (2010). The Degradation of Serotonin: Role of MAO. Handbook of Behavioral Neuroscience. 21. 203-218. 10.1016/S1569-7339(10)70079-5.
16. Artigas F. (2013). Serotonin receptors involved in antidepressant effects. Pharmacology & therapeutics, 137(1), 119–131.
17. Hoyer, D., Clarke, D. E., Fozard, J. R., Hartig, P. R., Martin, G. R., Mylecharane, E. J., Saxena, P. R., & Humphrey, P. P. (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). Pharmacological reviews, 46(2), 157–203.
18. Marek, Gerard. (2010). CHAPTER 2.2 - Electrophysiology of Serotonin Receptors. Handbook of Behavioral Neuroscience. 21. 163-182. 10.1016/S1569-7339(10)70077-1.
19. Carhart-Harris, R. L., & Nutt, D. J. (2017). Serotonin and brain function: a tale of two receptors. Journal of psychopharmacology (Oxford, England), 31(9), 1091–1120.
20. Sharp, Trevor. (2010). Serotonergic Feedback Control. Handbook of Behavioral Neuroscience. 21. 233-247. 10.1016/S1569-7339(10)70081-3.
21. Krishnamoorthy, S., Ma, Z., Zhang, G., Wei, J., Auerbach, S. B., & Tao, R. (2010). Involvement of 5-HT2A receptors in the serotonin (5-HT) syndrome caused by excessive 5-HT efflux in rat brain. Basic & clinical pharmacology & toxicology, 107(4), 830–841.
22. Fox, M. A., Jensen, C. L., Gallagher, P. S., & Murphy, D. L. (2007). Receptor mediation of exaggerated responses to serotonin-enhancing drugs in serotonin transporter (SERT)-deficient mice. Neuropharmacology, 53(5), 643–656.
23. Isbister, G. K., & Buckley, N. A. (2005). The pathophysiology of serotonin toxicity in animals and humans: implications for diagnosis and treatment. Clinical neuropharmacology, 28(5), 205–214.
24. Porcelli, S., Drago, A., Fabbri, C., Gibiino, S., Calati, R., & Serretti, A. (2011). Pharmacogenetics of antidepressant response. Journal of psychiatry & neuroscience: JPN, 36(2), 87–113.

25. Pithadia, A. B., & Jain, S. M. (2009). 5-Hydroxytryptamine Receptor Subtypes and their Modulators with Therapeutic Potentials. Journal of clinical medicine research, 1(2), 72–80.
26. Hensler, J.G. Basic Neurochemistry: Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology, 8th ed.; Academic Press (Elsevier): Waltham, MA, USA, 2012; Volume 15.
27. Mohammad-Zadeh, L. F., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. M. (2008). Serotonin: a review. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 31(3), 187–199.
28. Francescangeli, J., Karamchandani, K., Powell, M., & Bonavia, A. (2019). The Serotonin Syndrome: From Molecular Mechanisms to Clinical Practice. International journal of molecular sciences, 20(9), 2288.
29. Scotton, W. J., Hill, L. J., Williams, A. C., & Barnes, N. M. (2019). Serotonin Syndrome: Pathophysiology, Clinical Features, Management, and Potential Future Directions. International journal of tryptophan research: IJTR, 12, 1178646919873925.
30. Racz, R., Soldatos, T. G., Jackson, D., & Burkhart, K. (2018). Association Between Serotonin Syndrome and Second-Generation Antipsychotics via Pharmacological Target-Adverse Event Analysis. Clinical and translational science, 11(3), 322–329.
31. Sun-Edelstein, C., Tepper, S. J., & Shapiro, R. E. (2008). Drug-induced serotonin syndrome: a review. Expert opinion on drug safety, 7(5), 587–596.
32. Nisijima, K., Shioda, K., Yoshino, T., Takano, K., & Kato, S. (2004). Memantine, an NMDA antagonist, prevents the development of hyperthermia in an animal model for serotonin syndrome. Pharmacopsychiatry, 37(2), 57–62.
33. Nisijima, K., Yoshino, T., Yui, K., & Katoh, S. (2001). Potent serotonin (5-HT)(2A) receptor antagonists completely prevent the development of hyperthermia in an animal model of the 5-HT syndrome. Brain research, 890(1), 23–31.
34. Sleight, A. J., Marsden, C. A., Martin, K. F., & Palfreyman, M. G. (1988). Relationship between extracellular 5-hydroxytryptamine and behaviour following monoamine oxidase inhibition and L-tryptophan. British journal of pharmacology, 93(2), 303–310.

35. Monte, A. A., Chuang, R., & Bodmer, M. (2010). Dextromethorphan, chlorphenamine and serotonin toxicity: case report and systematic literature review. British journal of clinical pharmacology, 70(6), 794–798.
36. I Lorenzini, K., Calmy, A., Ambrosioni, J., Assouline, B., Daali, Y., Fathi, M. et al. (2012). Serotonin syndrome following drug-drug interactions and CYP2D6 and CYP2C19 genetic polymorphisms in an HIV-infected patient. AIDS (London, England), 26(18), 2417–2418.
37. Kaneda, Y., Kawamura, I., Fujii, A., & Ohmori, T. (2002). Serotonin syndrome - 'potential' role of the CYP2D6 genetic polymorphism in Asians. The international journal of neuropsychopharmacology, 5(1), 105–106.
38. Piatkov, I.; Mann, G.; Jones, T.; McLean, M.; Gunja, N. (2017) Serotonin toxicity and cytochrome p450 poor metaboliser genotype patient case. Journal of Investigative Genomics, 4, 1–5.
39. Kasper, S., Praschak-Rieder, N., Tauscher, J., & Wolf, R. (1997). A risk-benefit assessment of mirtazapine in the treatment of depression. Drug safety, 17(4), 251–264.
40. Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., Benjamin, J., Müller, C. R., Hamer, D. H., & Murphy, D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. Science (New York, N.Y.), 274(5292), 1527–1531.
41. Birmes, P., Coppin, D., Schmitt, L., & Lauque, D. (2003). Serotonin syndrome: a brief review. CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne, 168(11), 1439–1442.
42. Bronstein, A. C., Spyker, D. A., Cantilena, L. R., Jr, Rumack, B. H., & Dart, R. C. (2012). 2011 Annual report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 29th Annual Report. Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.), 50(10), 911–1164.
43. Logan, B. K., Mohr, A. L. A., Friscia, M., Krotulski, A. J., Papsun, D. M., Kacinko, S. L., Ropero-Miller, J. D., & Huestis, M. A. (2017). Reports of adverse events associated with use of novel psychoactive substances, 2013-2016: A review. Journal of Analytical Toxicology, 41(7), 573-610.

44. Fleckenstein AE, Volz TJ, Riddle EL, Gibb JW, Hanson GR. (2007) New insights into the mechanism of action of amphetamines. Annual Review of Pharmacology and Toxicology; 47, 681-698.
45. Hassan, Z., Bosch, O. G., Singh, D., Narayanan, S., Kasinather, B. V., Seifritz, E., Kornhuber, J., Quednow, B. B., & Müller, C. P. (2017). Novel Psychoactive Substances-Recent Progress on Neuropharmacological Mechanisms of Action for Selected Drugs. Frontiers in psychiatry, 8, 152.
46. Mitchell P. B. (1997). Drug interactions of clinical significance with selective serotonin reuptake inhibitors. Drug safety, 17(6), 390–406.
47. Isbister, G. K., Bowe, S. J., Dawson, A., & Whyte, I. M. (2004). Relative toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in overdose. Journal of toxicology. Clinical toxicology, 42(3), 277–285.
48. Chander, W. P., Singh, N., & Mukhiya, G. K. (2011). Serotonin syndrome in maintenance haemodialysis patients following sertraline treatment for depression. Journal of the Indian Medical Association, 109(1), 36–37.
49. Tao, R., Rudacille, M., Zhang, G., & Ma, Z. (2014). Changes in intensity of serotonin syndrome caused by adverse interaction between monoamine oxidase inhibitors and serotonin reuptake blockers. Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology, 39(8), 1996–2007.
50. Gillman P. K. (2006). A review of serotonin toxicity data: implications for the mechanisms of antidepressant drug action. Biological psychiatry, 59(11), 1046–1051.
51. Otte, W., Birkenhager, T. K., & van den Broek, W. W. (2003). Fatal interaction between tranylcypromine and imipramine. European psychiatry: the journal of the Association of European Psychiatrists, 18(5), 264–265.
52. Perry N. K. (2000). Venlafaxine-induced serotonin syndrome with relapse following amitriptyline. Postgraduate medical journal, 76(894), 254–256.
53. Thorpe, E. L., Pizon, A. F., Lynch, M. J., & Boyer, J. (2010). Bupropion induced serotonin syndrome: a case report. Journal of medical toxicology: official journal of the American College of Medical Toxicology, 6(2), 168–171.
54. Gillman K. (2004). Moclobemide and the risk of serotonin toxicity (or serotonin syndrome). CNS drug reviews, 10(1), 83–88.

55. Varatharaj, A., & Moran, J. (2014). Pendular nystagmus associated with venlafaxine overdose: a forme fruste of the serotonin syndrome?. BMJ case reports, 2014, bcr2013202106.
56. Daniels R. J. (1998). Serotonin syndrome due to venlafaxine overdose. Journal of accident & emergency medicine, 15(5), 333–334.
57. Mackay, F. J., Dunn, N. R., & Mann, R. D. (1999). Antidepressants and the serotonin syndrome in general practice. The British journal of general practice: the journal of the Royal College of General Practitioners, 49(448), 871–874.
58. Olsen D, Dart R, Robinett M. (2004). Severe serotonin syndrome from escitalopram overdose. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 42, 744–745.
59. Whyte, I. M., Dawson, A. H., & Buckley, N. A. (2003). Relative toxicity of venlafaxine and selective serotonin reuptake inhibitors in overdose compared to tricyclic antidepressants. QJM : monthly journal of the Association of Physicians, 96(5), 369–374.
60. Lejoyeux, M., Rouillon, F., & Adès, J. (1993). Prospective evaluation of the serotonin syndrome in depressed inpatients treated with clomipramine. Acta psychiatrica Scandinavica, 88(5), 369–371.
61. Isbister GK, Hackett LP. (2003). Nefazodone poisoning: toxicokinetics and toxicodynamics using continuous data collection. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 41, 167–173.
62. Stanford S, Stanford B, Gillman P. (2009) Risk of severe serotonin toxicity following co-administration of methylene blue and serotonin reuptake inhibitors: an update on a case report of post-operative delirium. Journal of Psychopharmacology, 24(10), 1433-1438.
63. Connor H. (2003). Serotonin syndrome after single doses of co-amoxiclav during treatment with venlafaxine. Journal of the Royal Society of Medicine, 96(5), 233–234.
64. Patel, Y. A., & Marzella, N. (2017). Dietary Supplement-Drug Interaction-Induced Serotonin Syndrome Progressing to Acute Compartment Syndrome. The American journal of case reports, 18, 926–930.

65. Ramsay, R. R., Dunford, C., & Gillman, P. K. (2007). Methylene blue and serotonin toxicity: inhibition of monoamine oxidase A (MAO A) confirms a theoretical prediction. British journal of pharmacology, 152(6), 946–951.
66. Sclar, D. A., Robison, L. M., & Skaer, T. L. (2008). Concomitant triptan and SSRI or SNRI use: a risk for serotonin syndrome. Headache, 48(1), 126–129.
67. Isbister, G. K., Downes, F., & Whyte, I. M. (2003). Olanzapine and serotonin toxicity. Psychiatry and clinical neurosciences, 57(2), 241–242.
68. Morales-Molina, J. A., Mateu-de Antonio, J., Marín-Casino, M., & Grau, S. (2005). Linezolid-associated serotonin syndrome: what we can learn from cases reported so far. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 56(6), 1176–1178.
69. Schwartz, A. R., Pizon, A. F., & Brooks, D. E. (2008). Dextromethorphan-induced serotonin syndrome. Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.), 46(8), 771–773.
70. Monte, A. A., Chuang, R., & Bodmer, M. (2010). Dextromethorphan, chlorphenamine and serotonin toxicity: case report and systematic literature review. British journal of clinical pharmacology, 70(6), 794–798.
71. Dy, P., Arcega, V., Ghali, W., & Wolfe, W. (2017). Serotonin syndrome caused by drug to drug interaction between escitalopram and dextromethorphan. BMJ case reports, 2017, bcr2017221486.
72. Chen, Z. R., Somogyi, A. A., & Bochner, F. (1990). Simultaneous determination of dextromethorphan and three metabolites in plasma and urine using high-performance liquid chromatography with application to their disposition in man. Therapeutic drug monitoring, 12(1), 97–104.
73. Kinoshita, H., Ohkubo, T., Yasuda, M., & Yakushiji, F. (2011). Serotonin syndrome induced by dextromethorphan (Medicon) administrated at the conventional dose. Geriatrics & gerontology international, 11(1), 121–122.
74. Bee LA, Bannister K, Rahman W, Dickenson AH (2011). Mu-opioid and noradrenergic alpha(2)-adrenoceptor contributions to the effects of tapentadol on spinal electrophysiological measures of nociception in nerve-injured rats. Pain 152: 131–139.
75. Benade, V., Nirogi, R., Bhyrapuneni, G., Daripelli, S., Ayyanki, G., Irappanavar et al. (2017). Mechanistic evaluation of tapentadol in reducing the pain perception using in-

vivo brain and spinal cord microdialysis in rats. European journal of pharmacology, 809, 224–230.

76. Walczyk, H., Liu, C. H., Alafris, A., & Cohen, H. (2016). Probable Tapentadol-Associated Serotonin Syndrome After Overdose. Hospital pharmacy, 51(4), 320–327.
77. Tao, R., Karnik, M., Ma, Z., & Auerbach, S. B. (2003). Effect of fentanyl on 5-HT efflux involves both opioid and 5-HT1A receptors. British journal of pharmacology, 139(8), 1498–1504.
78. Rang, S. T., Field, J., & Irving, C. (2008). Serotonin toxicity caused by an interaction between fentanyl and paroxetine. Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthesie, 55(8), 521–525.
79. Alkhatib, A. A., Peterson, K. A., & Tuteja, A. K. (2010). Serotonin syndrome as a complication of fentanyl sedation during esophagogastroduodenoscopy. Digestive diseases and sciences, 55(1), 215–216.
80. Rickli, A., Liakoni, E., Hoener, M. C., & Liechti, M. E. (2018). Opioid-induced inhibition of the human 5-HT and noradrenaline transporters in vitro: link to clinical reports of serotonin syndrome. British journal of pharmacology, 175(3), 532–543.
81. Codd, E. E., Shank, R. P., Schupsky, J. J., & Raffa, R. B. (1995). Serotonin and norepinephrine uptake inhibiting activity of centrally acting analgesics: structural determinants and role in antinociception. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 274(3), 1263–1270.
82. Kotlinska-Lemieszek, A., Klepstad, P., & Haugen, D. F. (2015). Clinically significant drug-drug interactions involving opioid analgesics used for pain treatment in patients with cancer: a systematic review. Drug design, development and therapy, 9, 5255–5267.
83. Harada, T., Hirosawa, T., Morinaga, K., & Shimizu, T. (2017). Metoclopramide-induced Serotonin Syndrome. Internal medicine (Tokyo, Japan), 56(6), 737–739.
84. Barann M, Stamer UM, Lyutenska M, Stuber F, Bonisch H, Urban B (2015). Effects of opioids on human serotonin transporters. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 388(1), 43–49.
85. Gillman PK (2005). Monoamine oxidase inhibitors, opioid analgesics and serotonin toxicity. British Journal of Anaesthesia, 95: 434–441.

86. Lee, J., Franz, L., & Goforth, H. W. (2009). Serotonin syndrome in a chronic-pain patient receiving concurrent methadone, ciprofloxacin, and venlafaxine. Psychosomatics, 50(6), 638–639.
87. Magro, L., Moretti, U., & Leone, R. (2012). Epidemiology and characteristics of adverse drug reactions caused by drug-drug interactions. Expert opinion on drug safety, 11(1), 83–94.
88. Duggal, H. S., & Fetchko, J. (2002). Serotonin syndrome and atypical antipsychotics. The American journal of psychiatry, 159(4), 672–673.
89. Preskorn S, Flockhart D. (2009) 2010 guide to psychiatric drug interactions. Primary Psychiatry,16, 45–74.
90. Lewis L. D. (2010). Drug-drug interactions: is there an optimal way to study them?. British journal of clinical pharmacology, 70(6), 781–783.
91. Moore, N., Noblet, C., Kreft-Jais, C., Lagier, G., Ollagnier, M., & Imbs, J. L. (1995). La banque de cas du système français de pharmacovigilance: quelques exemples d'exploitation [French pharmacovigilance database system: examples of utilisation]. Therapie, 50(6), 557–562.
92. Brown, E. G., Wood, L., & Wood, S. (1999). The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA). Drug safety, 20(2), 109–117.
93. Thiessard, F., Roux, E., Miremont-Salamé, G., Fourrier-Réglat, A., Haramburu, F., Tubert-Bitter, P., & Bégaud, B. (2005). Trends in spontaneous adverse drug reaction reports to the French pharmacovigilance system (1986-2001). Drug safety, 28(8), 731–740.
94. Ingelman-Sundberg M. (2004). Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. Trends in pharmacological sciences, 25(4), 193–200.
95. Centre d'Informations Thérapeutiques et de PharmacoVigilance, Service de Pharmacologie et Toxicologie Cliniques, Hôpitaux Universitaires de Genève (Switzerland). Interactions Médicamenteuses et Cytochromes P 450. HUG Web site. Available at: pdf/cytp450pgp.pdf. Accessed October 22, 2014.
96. European Medicines Agency. Available at: http://www.ema.europa.eu/ema/. Accessed October 22, 2014.

97. Sansone, R. A., & Sansone, L. A. (2009). Tramadol: seizures, serotonin syndrome, and coadministered antidepressants. Psychiatry (Edgmont (Pa.: Township)), 6(4), 17–21.

98. Aminiahidashti, H., Shafiee, S., Mousavi, S. J., & Hajiaghaei, G. (2016). Tramadol Pill Alone May Cause Serotonin Syndrome. Chinese medical journal, 129(7), 877–878.

99. Bloms-Funke, P., Dremencov, E., Cremers, T. I., & Tzschentke, T. M. (2011). Tramadol increases extracellular levels of serotonin and noradrenaline as measured by in vivo microdialysis in the ventral hippocampus of freely-moving rats. Neuroscience letters, 490(3), 191–195.

100. Maréchal, C., Honorat, R., & Claudet, I. (2011). Serotonin syndrome induced by tramadol intoxication in an 8-month-old infant. Pediatric neurology, 44(1), 72–74.

101. Bamigbade, T. A., Davidson, C., Langford, R. M., & Stamford, J. A. (1997). Actions of tramadol, its enantiomers and principal metabolite, O-desmethyltramadol, on serotonin (5-HT) efflux and uptake in the rat dorsal raphe nucleus. British journal of anaesthesia, 79(3), 352–356.

102. Mason, B. J., & Blackburn, K. H. (1997). Possible serotonin syndrome associated with tramadol and sertraline coadministration. The Annals of pharmacotherapy, 31(2), 175–177.

103. Lange-Asschenfeldt, C., Weigmann, H., Hiemke, C., & Mann, K. (2002). Serotonin syndrome as a result of fluoxetine in a patient with tramadol abuse: plasma level-correlated symptomatology. Journal of clinical psychopharmacology, 22(4), 440–441.

104. Fox, M. A., Jensen, C. L., & Murphy, D. L. (2009). Tramadol and another atypical opioid meperidine have exaggerated serotonin syndrome behavioural effects, but decreased analgesic effects, in genetically deficient serotonin transporter (SERT) mice. The international journal of neuropsychopharmacology, 12(8), 1055–1065.

105. Shakoor, M., Ayub, S., Ahad, A., & Ayub, Z. (2014). Transient serotonin syndrome caused by concurrent use of tramadol and selective serotonin reuptake inhibitor. The American journal of case reports, 15, 562–564.

106. Houlihan D. J. (2004). Serotonin syndrome resulting from coadministration of tramadol, venlafaxine, and mirtazapine. The Annals of pharmacotherapy, 38(3), 411–413.

107. Liu, Y., Yang, H., He, F., Xu, P., Tong, H., Liu, Y., Wang, J. (2019). An atypical case of serotonin syndrome with normal dose of selective serotonin inhibitors: A case report. Medicine, 98(19), e15554.
108. Gill, M., LoVecchio, F., & Selden, B. (1999). Serotonin syndrome in a child after a single dose of fluvoxamine. Annals of emergency medicine, 33(4), 457–459.
109. Malik, A., & Junglee, N. (2015). A case of the serotonin syndrome secondary to phenelzine monotherapy at therapeutic dosing. Case reports in medicine, 2015, 931963.
110. Ables, A. Z., & Nagubilli, R. (2010). Prevention, recognition, and management of serotonin syndrome. American family physician, 81(9), 1139–1142.
111. Foong, A. L., Grindrod, K. A., Patel, T., & Kellar, J. (2018). Demystifying serotonin syndrome (or serotonin toxicity). Canadian family physician Medecin de famille canadien, 64(10), 720–727.
112. Mason, P. J., Morris, V. A., & Balcezak, T. J. (2000). Serotonin syndrome. Presentation of 2 cases and review of the literature. Medicine, 79(4), 201–209.
113. Morales-Molina, J. A., Mateu-de Antonio, J., Marín-Casino, M., & Grau, S. (2005). Linezolid-associated serotonin syndrome: what we can learn from cases reported so far. The Journal of antimicrobial chemotherapy, 56(6), 1176–1178.
114. Little, K., Lin, C. M., & Reynolds, P. M. (2018). Delayed Serotonin Syndrome in the Setting of a Mixed Fluoxetine and Serotonin Antagonist Overdose. The American journal of case reports, 19, 604–607.
115. Walter, E., & Carraretto, M. (2015). Drug-induced hyperthermia in critical care. Journal of the Intensive Care Society, 16(4), 306–311.
116. Guo, M. H., Monir, R. L., Wright, A., & Holland, N. P. (2018). Case of Serotonin Syndrome Initially Presenting as Diffuse Body Pain. The American journal of case reports, 19, 1227–1231.
117. Shah, N. D., & Jain, A. B. (2016). Serotonin syndrome presenting as pulmonary edema. Indian journal of pharmacology, 48(1), 93–95.
118. Culbertson, V. L., Rahman, S. E., Bosen, G. C., Caylor, M. L., Echevarria, M. M., & Xu, D. (2018). Implications of Off-Target Serotoninergic Drug Activity: An Analysis of Serotonin Syndrome Reports Using a Systematic Bioinformatics Approach. Pharmacotherapy, 38(9), 888–898.

119. Sternbach H. (1991). The serotonin syndrome. The American journal of psychiatry, 148(6), 705–713.
120. Radomski, J. W., Dursun, S. M., Reveley, M. A., & Kutcher, S. P. (2000). An exploratory approach to the serotonin syndrome: an update of clinical phenomenology and revised diagnostic criteria. Medical hypotheses, 55(3), 218–224.
121. Dunkley, E. J., Isbister, G. K., Sibbritt, D., Dawson, A. H., & Whyte, I. M. (2003). The Hunter Serotonin Toxicity Criteria: simple and accurate diagnostic decision rules for serotonin toxicity. QJM : monthly journal of the Association of Physicians, 96(9), 635–642.
122. Uddin, M. F., Alweis, R., Shah, S. R., Lateef, N., Shahnawaz, W., Ochani et al. (2017). Controversies in Serotonin Syndrome Diagnosis and Management: A Review. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR, 11(9), OE05–OE07.
123. Dosi, R., Ambaliya, A., Joshi, H., & Patell, R. (2014). Serotonin syndrome versus neuroleptic malignant syndrome: a challenging clinical quandary. BMJ case reports, bcr2014204154.
124. Sampson, E., & Warner, J. P. (1999). Serotonin syndrome: potentially fatal but difficult to recognize. The British journal of general practice: the journal of the Royal College of General Practitioners, 49(448), 867–868.
125. Hiraga, A., & Kuwabara, S. (2017). Malignant Syndrome and Serotonin Syndrome in a General Hospital Setting: Clinical Features, Frequency and Prognosis. Internal medicine (Tokyo, Japan), 56(21), 2865–2869.
126. Mazhar, F., Akram, S., Haider, N., & Ahmed, R. (2016). Overlapping of Serotonin Syndrome with Neuroleptic Malignant Syndrome due to Linezolid-Fluoxetine and Olanzapine-Metoclopramide Interactions: A Case Report of Two Serious Adverse Drug Effects Caused by Medication Reconciliation Failure on Hospital Admission. Case reports in medicine, 2016, 7128909.
127. Rosenberg, H., Pollock, N., Schiemann, A., Bulger, T., & Stowell, K. (2015). Malignant hyperthermia: a review. Orphanet journal of rare diseases, 10, 93.
128. Brown, T. M., Skop, B. P., & Mareth, T. R. (1996). Pathophysiology and management of the serotonin syndrome. The Annals of pharmacotherapy, 30(5), 527–533.

129. Ott, M., Mannchen, J. K., Jamshidi, F., & Werneke, U. (2019). Management of severe arterial hypertension associated with serotonin syndrome: a case report analysis based on systematic review techniques. Therapeutic advances in psychopharmacology, 9, 2045125318818814.
130. Kline, S. S., Mauro, L. S., Scala-Barnett, D. M., & Zick, D. (1989). Serotonin syndrome versus neuroleptic malignant syndrome as a cause of death. Clinical pharmacy, 8(7), 510–514.
131. Isbister, G. K., & Whyte, I. M. (2002). Serotonin toxicity and malignant hyperthermia: role of 5-HT2 receptors. British journal of anaesthesia, 88(4), 603–604.
132. Gillman P. K. (1999). The serotonin syndrome and its treatment. Journal of psychopharmacology (Oxford, England), 13(1), 100–109.
133. Dvir, Y., & Smallwood, P. (2008). Serotonin syndrome: a complex but easily avoidable condition. General hospital psychiatry, 30(3), 284–287.
134. Nisijima, K., Shioda, K., Yoshino, T., Takano, K., & Kato, S. (2003). Diazepam and chlormethiazole attenuate the development of hyperthermia in an animal model of the serotonin syndrome. Neurochemistry international, 43(2), 155–164.
135. McDaniel W. W. (2001). Serotonin syndrome: early management with cyproheptadine. The Annals of pharmacotherapy, 35(7-8), 870–873.
136. Boddy R, Ali R, Dowsett R. (2004) Use of sublingual olanzapine in serotonin syndrome. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 42:725. abstract.
137. Nisijima, K., Yoshino, T., & Ishiguro, T. (2000). Risperidone counteracts lethality in an animal model of the serotonin syndrome. Psychopharmacology, 150(1), 9–14. 137
138. Hoes, M. J., & Zeijpveld, J. H. (1996). Mirtazapine as treatment for serotonin syndrome. Pharmacopsychiatry, 29(2), 81.
139. Haslett, C. D., & Kumar, S. (2002). Can olanzapine be implicated in causing serotonin syndrome?. Psychiatry and clinical neurosciences, 56(5), 533–535.
140. Zarrindast, M. R., & Oveissi, Y. (1988). GABAA and GABAB receptor sites involvement in rat thermoregulation. General pharmacology, 19(2), 223–226.
141. Walter, E. J., Hanna-Jumma, S., Carraretto, M., & Forni, L. (2016). The pathophysiological basis and consequences of fever. Critical care (London, England), 20(1), 200.

142. Koleva, K., Pavlov, O., Nikolov, R., & Behr, R. (2020). Deep brain stimulation as a possible treatment of hyperthermia in patients with serotonin syndrome. Medical hypotheses, 139, 109704.
143. D.G. Schultz . F.a.D. Administration, editor. Medtronic Activa® Dystonia Therapy 2003 Rockville MD.
144. D.-B. Tillman Reclaim Deep Brain Stimulation for Obsessive Compulsive Disorder (OCD) Therapy. F.a.D. Administration, editor. Food and Drug Administration 2009 Rockville MD.
145. Foreman C: RNS® System, in: F.a.D. Administration, editor. (Ed.), Silver Spring, MD, 2013.
146. Haberzettl, R., Bert, B., Fink, H., & Fox, M. A. (2013). Animal models of the serotonin syndrome: a systematic review. Behavioural brain research, 256, 328–345.
147. Hwang, E. C., & Van Woert, M. H. (1979). Behavioral and biochemical actions of p-chlorophenylethylamine (p-CPEA) in mice. Life sciences, 24(7), 595–601.
148. Lucki, I., Nobler, M. S., & Frazer, A. (1984). Differential actions of serotonin antagonists on two behavioral models of serotonin receptor activation in the rat. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 228(1), 133–139.
149. Zhang, G., Krishnamoorthy, S., Ma, Z., Vukovich, N. P., Huang, X., & Tao, R. (2009). Assessment of 5-hydroxytryptamine efflux in rat brain during a mild, moderate and severe serotonin-toxicity syndrome. European journal of pharmacology, 615(1-3), 66–75.
150. Goodwin, G. M., De Souza, R. J., Wood, A. J., & Green, A. R. (1986). The enhancement by lithium of the 5-HT1A mediated serotonin syndrome produced by 8-OH-DPAT in the rat: evidence for a post-synaptic mechanism. Psychopharmacology, 90(4), 488–493.
151. Goodwin, G. M., & Green, A. R. (1985). A behavioural and biochemical study in mice and rats of putative selective agonists and antagonists for 5-HT1 and 5-HT2 receptors. British journal of pharmacology, 84(3), 743–753.
152. Goodwin, G. M., De Souza, R. J., Green, A. R., & Heal, D. J. (1987). The pharmacology of the behavioural and hypothermic responses of rats to 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). Psychopharmacology, 91(4), 506–511.

153. Green, A. R., Guy, A. P., & Gardner, C. R. (1984). The behavioural effects of RU 24969, a suggested 5-HT1 receptor agonist in rodents and the effect on the behaviour of treatment with antidepressants. Neuropharmacology, 23(6), 655–661.
154. Lu, J. Q., & Nagayama, H. (1996). Circadian rhythm in the response of central 5-HT1A receptors to 8-OH-DPAT in rats. Psychopharmacology, 123(1), 42–45.
155. Lu, J. Q., & Nagayama, H. (1997). Circadian rhythm in the function of central 5-HT1A receptors is endogenous in nature. Cellular and molecular life sciences: CMLS, 53(3), 224–226.
156. Smith, L. M., & Peroutka, S. J. (1986). Differential effects of 5-hydroxytryptamine1a selective drugs on the 5-HT behavioral syndrome. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 24(6), 1513–1519.
157. Assié, M. B., Bardin, L., Auclair, A. L., Carilla-Durand, E., Depoortère, R., Koek, W., et al. (2010). F15599, a highly selective post-synaptic 5-HT(1A) receptor agonist: in-vivo profile in behavioural models of antidepressant and serotonergic activity. The international journal of neuropsychopharmacology, 13(10), 1285–1298.
158. Forster, E. A., Cliffe, I. A., Bill, D. J., Dover, G. M., Jones, D., Reilly, Y., & Fletcher, A. (1995). A pharmacological profile of the selective silent 5-HT1A receptor antagonist, WAY-100635. European journal of pharmacology, 281(1), 81–88.
159. Peroutka, S. J., Lebovitz, R. M., & Snyder, S. H. (1981). Two distinct central serotonin receptors with different physiological functions. Science (New York, N.Y.), 212(4496), 827–829.
160. Yap, C. Y., & Taylor, D. A. (1983). Involvement of 5-HT2 receptors in the wet-dog shake behaviour induced by 5-hydroxytryptophan in the rat. Neuropharmacology, 22(7), 801–804.
161. Roth BL, Hyde EG. (1997) Pharmacology of 5-HT2 receptors. In: Baumgarten HGGM, editor. Handbook of experimental pharmacology, serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; p.367–94.
162. Koshikawa, F., Koshikawa, N., & Stephenson, J. D. (1985). Effects of antidepressant drug combinations on cortical 5-HT2 receptors and wet-dog shakes in rats. European journal of pharmacology, 118(3), 273–281.

163. Willins, D. L., & Meltzer, H. Y. (1997). Direct injection of 5-HT2A receptor agonists into the medial prefrontal cortex produces a head-twitch response in rats. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 282(2), 699–706.
164. Baldo B. A. (2018). Opioid analgesic drugs and serotonin toxicity (syndrome): mechanisms, animal models, and links to clinical effects. Archives of toxicology, 92(8), 2457–2473.
165. Fda Warns about Several Safety Issues with Opioid Pain Medicines; Requires Label Changes. Available online: https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communicationfda-warns-about-several-safety-issues-opioid-pain-edicines-requireswebsite (accessed on 27 April 2019).
166. Page I. H. (1958). Serotonin (5-hydroxytryptamine); the last four years. Physiological reviews, 38(2), 277–335.
167. Bogdanski, D. F., Weissbach, H., & Udenfriend (1958). Pharmacological studies with the serotonin precursor, 5-hydroxytryptophan. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 122(2), 182–194.
168. Gwaltney-Brant, S. M., Albretsen, J. C., & Khan, S. A. (2000). 5-Hydroxytryptophan toxicosis in dogs: 21 cases (1989-1999). Journal of the American Veterinary Medical Association, 216(12), 1937–1940.
169. Udenfriend, S., Weissbach, H., & Bogdanski, D. F. (1957). Increase in tissue serotonin following administration of its precursor 5-hydroxytryptophan. The Journal of biological chemistry, 224(2), 803–810.
170. Carruba, M. O., Nisticó, G., & Mantegazza, P. (1979). Evidence for a receptor supersensitivity following impairment of central serotoninergic activity in the rabbit. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 309(2), 125–129.
171. Volkman, P. H., Lorens, S. A., Kindel, G. H., & Ginos, J. Z. (1978). L-5-Hydroxytryptophan-induced myoclonus in guinea pigs: a model for the study of central serotonin-dopamine interactions. Neuropharmacology, 17(11), 947–955.
172. Luscombe, G., Jenner, P., & Marsden, C. D. (1981). Pharmacological analysis of the myoclonus induced by 5-hydroxytryptophan in the guinea pig suggests the presence of multiple 5-hydroxytryptamine receptors in the brain. Neuropharmacology, 20(9), 819–831.

173. Curzon, G., Ettlinger, G., Cole, M., & Walsh, J. (1963). The biochemical, behavioral, and neurologic effects of high Ltryptophan intake in the rhesus monkey. Neurology, 13, 431–438.
174. Mizuta, E., Yamaguchi, M., & Kuno, S. (1990). Behavioural effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT) in monkeys. European journal of pharmacology, 178(1), 125–127.
175. Taffe, M. A., Lay, C. C., Von Huben, S. N., Davis, S. A., Crean, R. D., & Katner, S. N. (2006). Hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine in unrestrained rhesus monkeys. Drug and alcohol dependence, 82(3), 276–281.
176. Johns Hopkins University. Species Specific Information. Retrieved from http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/rat.html
177. Roth, J., Rummel, C., Barth, S. W., Gerstberger, R., & Hübschle, T. (2006). Molecular aspects of fever and hyperthermia. Neurologic clinics, 24(3), 421–v.
178. Miyake Y. (2013). Pathophysiology of Heat Illness: Thermoregulation, risk factors, and indicators of aggravation. JMAJ 56(3): 167–173
179. O'Grady, N. P., Barie, P. S., Bartlett, J., Bleck, T., Garvey, G., Jacobi, J. Et al. (1998). Practice parameters for evaluating new fever in critically ill adult patients. Task Force of the American College of Critical Care Medicine of the Society of Critical Care Medicine in collaboration with the Infectious Disease Society of America. Critical care medicine, 26(2), 392–408.
180. Lee BH, Inui D, Suh GY, et al. (2012) Association of body temperature and antipyretic treatments with mortality of critically ill patients with and without sepsis: multi-centered prospective observational study. Critical care (London, England), 16(1), R33.
181. Halloran, L. L., & Bernard, D. W. (2004). Management of drug-induced hyperthermia. Current opinion in pediatrics, 16(2), 211–215.
182. Gillman P. K. (2010). Neuroleptic malignant syndrome: mechanisms, interactions, and causality. Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society, 25(12), 1780–1790.
183. K. M., Hill, J. L., & Murphy, D. L. (1995). Evidence that 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI)-induced hyperthermia in rats is mediated by stimulation of 5-HT2A receptors. Psychopharmacology, 117(2), 193–199.

184. Gudelsky, G. A., Koenig, J. I., & Meltzer, H. Y. (1986). Thermoregulatory responses to serotonin (5-HT) receptor stimulation in the rat. Evidence for opposing roles of 5-HT2 and 5-HT1A receptors. Neuropharmacology, 25(12), 1307–1313.
185. Lulebo, A. M., Bavuidibo, C. D., Mafuta, E. M., Ndelo, J. D., Mputu, L. C., Kabundji, D. M., & Mutombo, P. B. (2016). The misuse of Cyproheptadine: a non-communicable disease risk behaviour in Kinshasa population, Democratic Republic of Congo. Substance abuse treatment, prevention, and policy, 11, 7.
186. Mohammadi, M., Ahmadi, M., Khalili, H., Cheraghchi, H., & Arbabi, M. (2016). Cyproheptadine for the Prevention of Postoperative Delirium: A Pilot Study. The Annals of pharmacotherapy, 50(3), 180–187.
187. Paton, D. M., & Webster, D. R. (1985). Clinical pharmacokinetics of H1-receptor antagonists (the antihistamines). Clinical pharmacokinetics, 10(6), 477–497.
188. Graudins, A., Stearman, A., & Chan, B. (1998). Treatment of the serotonin syndrome with cyproheptadine. The Journal of emergency medicine, 16(4), 615–619.
189. Mauri, M. C., Paletta, S., Maffini, M., Colasanti, A., Dragogna, F., Di Pace, C., & Altamura, A. C. (2014). Clinical pharmacology of atypical antipsychotics: an update. EXCLI journal, 13, 1163–1191.
190. Vieta, E., & Montes, J. M. (2018). A Review of Asenapine in the Treatment of Bipolar Disorder. Clinical drug investigation, 38(2), 87–99.
191. Leysen, J. E., Gommeren, W., Eens, A., de Chaffoy de Courcelles, D., Stoof, J. C., & Janssen, P. A. (1988). Biochemical profile of risperidone, a new antipsychotic. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 247(2), 661–670.
192. van Marum, R. J., Wegewijs, M. A., Loonen, A. J., & Beers, E. (2007). Hypothermia following antipsychotic drug use. European journal of clinical pharmacology, 63(6), 627–631.
193. Zonnenberg, C., Bueno-de-Mesquita, J. M., Ramlal, D., & Blom, J. D. (2017). Hypothermia due to Antipsychotic Medication: A Systematic Review. Frontiers in psychiatry, 8, 165.
194. Zonnenberg, C., Bueno-de-Mesquita, J. M., Ramlal, D., & Blom, J. D. (2019). Antipsychotic-Related Hypothermia: Five New Cases. Frontiers in psychiatry, 10, 543.

195. Ajayi, O. O., & Holroyd, S. (2017). Severe recurrent hypothermia in an elderly patient with refractory mania associated with atypical antipsychotic, valproic acid and oxcarbazepine therapy. BMJ case reports, 2017, bcr2017222462.
196. Oerther, S., & Ahlenius, S. (2000). Atypical antipsychotics and dopamine D(1) receptor agonism: an in vivo experimental study using core temperature measurements in the rat. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 292(2), 731–736.
197. Loughnane T. (1968). Hypothermia in a young adult. Lancet (London, England), 2(7565), 455–456.
198. Razaq, M., & Samma, M. (2004). A case of risperidone-induced hypothermia. American journal of therapeutics, 11(3), 229–230.
199. Grau, K., Plener, P. L., Gahr, M., Denzer, C., & Freudenmann, R. W. (2017). Mild Hypothermia in a Child with Low-Dose Risperidone. Zeitschrift fur Kinder- und Jugendpsychiatrie und Psychotherapie, 45(4), 335–337.
200. Sharma, R. P., Janicak, P. G., Bissette, G., & Nemeroff, C. B. (1997). CSF neurotensin concentrations and antipsychotic treatment in schizophrenia and schizoaffective disorder. The American journal of psychiatry, 154(7), 1019–1021.
201. Lin, M. T., Wang, H. S., Wang, Z., & Chern, Y. F. (1979). Haloperidol produces hypothermic effects in rats. Experientia, 35(11), 1469–1470.
202. Rasnayake, L. R., Wimalarathne, H., Jayapala, R. K., Gamage, C. D., Dassanayake, D. L., Ratnayake et al. (2011). An unusual case of hypothermia associated with therapeutic doses of olanzapine: a case report. Journal of medical case reports, 5, 189.
203. Dalpiaz, A., Gessi, S., Borea, P. A., & Gilli, G. (1995). Binding thermodynamics of serotonin to rat-brain 5-HT1A, 5HT2A and 5-HT3 receptors. Life sciences, 57(12), PL141–PL146.
204. Peroutka, S. J., & Snyder, S. H. (1979). Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. Molecular pharmacology, 16(3), 687–699.
205. Ma, Z., Zhang, G., Jenney, C., Krishnamoorthy, S., & Tao, R. (2008). Characterization of serotonin-toxicity syndrome (toxidrome) elicited by 5-hydroxy-l-tryptophan in clorgyline-pretreated rats. European journal of pharmacology, 588(2-3), 198–206.

206. Zarrindast, M. R., & Dibayan, M. (1989). Involvement of GABAA receptor sites in diazepam hypothermia. General pharmacology, 20(6), 855–859.
207. Swiader, M. J., Luszczki, J. J., Zwolan, A., Wierzchowska-Cioch, E., Wielosz, M., & Czuczwar, S. J. (2004). Is a hypothermic effect of LY300164, valproate and phenobarbital evident in mice?. Roczniki Akademii Medycznej w Bialymstoku (1995), 49, 270–274.
208. Nikolov R, Yakimova K. Effects of GABA-acting drugs diazepam and sodium valproate on thermoregulation in rats. (2008). Journal of Thermal Biology, 33(8): 459–463.
209. Nikolov, R. P., & Yakimova, K. S. (2011). Effects of GABA-transaminase inhibitor Vigabatrin on thermoregulation in rats. Amino acids, 40(5), 1441–1445.
210. Rawls, S. M., Tallarida, R. J., Kon, D. A., Geller, E. B., & Adler, M. W. (2004). GABAA receptors modulate cannabinoid-evoked hypothermia. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 78(1), 83–91.
211. Clark W. G. (1979). Changes in body temperature after administration of amino acids, peptides, dopamine, neuroleptics and related agents. Neuroscience and biobehavioral reviews, 3(4), 179–231.
212. Burman, K. J., Ige, A. O., White, J. H., Marshall, F. H., Pangalos, M. N., Emson, P. C et al. (2003). GABAB receptor subunits, R1 and R2, in brainstem catecholamine and serotonin neurons. Brain research, 970(1-2), 35–46.
213. Mannoury la Cour, C., Hanoun, N., Melfort, M., Hen, R., Lesch, K. P., Hamon, M., & Lanfumey, L. (2004). GABA(B) receptors in 5-HT transporter- and 5-HT1A receptor-knock-out mice: further evidence of a transduction pathway shared with 5-HT1A receptors. Journal of neurochemistry, 89(4), 886–896.
214. Rastogi, R., Swarm, R. A., & Patel, T. A. (2011). Case scenario: opioid association with serotonin syndrome: implications to the practitioners. Anesthesiology, 115(6), 1291–1298.
215. Tirkkonen T, Laine K. (2004) Drug interactions with the potential to prevent prodrug activation as a common source of irrational prescribing in hospital inpatients. Clinical Pharmacology & Therapeutics; 76:639 – 47.

216. Ailawadhi, S., Sung, K. W., Carlson, L. A., & Baer, M. R. (2007). Serotonin syndrome caused by interaction between citalopram and fentanyl. Journal of clinical pharmacy and therapeutics, 32(2), 199–202.
217. Altman, E. M., & Manos, G. H. (2007). Serotonin syndrome associated with citalopram and meperidine. Psychosomatics, 48(4), 361–363.
218. Iacobucci G. (2019). NHS prescribed record number of antidepressants last year. BMJ (Clinical research ed.), 364, l1508.
219. Tao, R., & Auerbach, S. B. (2002). Opioid receptor subtypes differentially modulate serotonin efflux in the rat central nervous system. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 303(2), 549–556.
220. Haigler H. J. (1978). Morphine: effects on serotonergic neurons and neurons in areas with a serotonergic input. European journal of pharmacology, 51(4), 361–376.
221. Tao, R., & Auerbach, S. B. (2002). GABAergic and glutamatergic afferents in the dorsal raphe nucleus mediate morphine-induced increases in serotonin efflux in the rat central nervous system. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics, 303(2), 704–710.
222. Cannon, C. Z., Kissling, G. E., Hoenerhoff, M. J., King-Herbert, A. P., & Blankenship-Paris, T. (2010). Evaluation of dosages and routes of administration of tramadol analgesia in rats using hot-plate and tail-flick tests. Lab animal, 39(11), 342–351.
223. Taylor, B. F., Ramirez, H. E., Battles, A. H., Andrutis, K. A., & Neubert, J. K. (2016). Analgesic Activity of Tramadol and Buprenorphine after Voluntary Ingestion by Rats (Rattus norvegicus). Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS, 55(1), 74–82.
224. Ener, R. A., Meglathery, S. B., Van Decker, W. A., & Gallagher, R. M. (2003). Serotonin syndrome and other serotonergic disorders. Pain medicine (Malden, Mass.), 4(1), 63–74.
225. Bijl D. (2004). The serotonin syndrome. The Netherlands Journal of Medicine, 62: 309 –13.
226. Mills K. C. (1997). Serotonin syndrome. A clinical update. Critical care clinics, 13(4), 763–783.