

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON  
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA  
BUPİVAKAİN KARDİYOTOKSİSİTESİNE  
SİLDENAFİLİN ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DR. ŞENAY AYÖZEN**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2008**

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON  
ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA BUPİVAKAİN  
KARDİYOTOKSİSİTESİNE SİLDENAFİLİN  
ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. ŞENAY AYÖZEN**

**Tez Proje Danışmanı:**

**Yard. Doç. Dr. Ömür Maviöglü**

## **TESEKKÜR:**

DEÜTF Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD'da geçirdiğim asistanlık dönemim boyunca, bilgi ve deneyimleriyle bana ve tüm arkadaşlarıma yol gösteren ve eğitimimde emeği geçen Prof. Dr. Zahide Elar'a, Prof. Dr. Emel Sağıroğlu'na, Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Prof. Dr. Erol Gökel'e ve diğer tüm değerli hocalarıma;

Uzmanlık tezimin her aşamasında; gösterdiği yoğun çaba, verdiği büyük emeğin yanı sıra bana bir araştırmanın proje aşamasından son cümlesinin yazımına kadar tüm noktalarını titizlikle ve sabırla öğreten, danışman hocam Yard.Doç.Dr. Ömür Mavioğlu'na;

Bilgi ve emekleriyle bana her zaman destek olan, Yard.Doç.Dr. Aydın Taşdöğen'e, Doç.Dr. Hasan Hepağuşlar'a, Doç. Dr. Çimen Gülben Olguner'e;

Kıymetli zamanını bana ayırarak büyük bir titizlikle tezimin deneysel uygulama safhalarında bana yardımcı olan Prof.Dr. Osman Yılmaz'a;

Bu araştırma için gerekli cihazın sağlanması, kullanılması ve tezimin uygulama aşamalarında birçok kez bana yardımcı olan Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Mustafa Akhisarlıoğlu'na;

Teziminin yazım aşamasında büyük bir titizlikle bana yardımcı olan değerli arkadaşım Mustafa İldız'a; çalışmalarım sırasında desteklerini benden esirgemeyen, Uz. Dr. Ömer Torun Şahin'e, Uz. Dr Emine Özdemir'e, Uz. Dr. Mensure Yılmaz'a, Uz. Dr.Alper Doğan'a, Uz. Dr. Özlem Çınar'a;

Dört yıl altı ay boyunca birlikte çalıştığım, mesleğimin inceliklerini öğrenirken, aynı zamanda acısıyla tatlısıyla hayatın her yönünü paylaştığım, tüm asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikerlerimize, ameliyathane, poliklinik, yoğun bakım hemşireleri ve çalışanlarına, diğer bölümlerde görev alan ve birlikte çalışma olanağı bulduğum tüm dostlarıma;

Beni bu günlere getiren, yoğun eğitim sürecimde beni hiç yalnız bırakmayan, ayırabildiğim kısıtlı zamana rağmen sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli aileme; tüm içtenliği ile her an yanımda olan ve bana sonsuz destek veren ağabeyime ve değerli eşine;

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimle...

Şenay AYÖZEN

<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>i</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>ii</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>1</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>3</b>
<b>GİRİŞ</b> .....	<b>5</b>
<b>AMAÇ</b> .....	<b>6</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>7</b>
<b>I. Lokal Anestezikler</b> .....	<b>7</b>
<b>II. Lokal Anesteziklerin sistemik etkileri</b> .....	<b>8</b>
<b>III. Lokal Anesteziklere Bağlı Gelişen Toksik Reaksiyonlar</b> .....	<b>9</b>
<b>VI.IV. Lokal Anestezik Doz Aşımının Önlenmesi</b> .....	<b>14</b>
<b>VII.V. Lokal Anestezik Toksisitesinde Tedavi</b> .....	<b>15</b>
<b>VIII.VI. Fosfodiesteraz Tip 5 İnhibitörleri</b> .....	<b>16</b>
<b>IX.VII. Sildenafil</b> .....	<b>17</b>
<b>X.VIII. Sildenafil İlişkili Kardiyoproteksiyon</b> .....	<b>19</b>
<b>XI.IX. Sildenafil İlişkili Kardiyoproteksiyonda Sinyal iletimi</b> .....	<b>20</b>
<b>XII.X. Sıçanların Biyolojik Parametreleri</b> .....	<b>22</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
<b>BULGULAR</b> .....	<b>30</b>
<b>TARTIŞMA</b> .....	<b>36</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>44</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>45</b>
<b>EKLER</b> .....	<b>60</b>

<b>Tablo 1.</b> Sistemik toksik reaksiyonların sıklığı .....	9
<b>Tablo 2.</b> Sildenafilin kardiyoprotektif etkileri ile ilişkili deneysel çalışmalar .....	19
<b>Tablo 3.</b> Sıçanların temel biyolojik parametreleri .....	22
<b>Tablo 4.</b> Deneklerin vücut ağırlıklıkları .....	30
<b>Tablo 5.</b> Deneklerin bazal kalp atım hızı, ortalama arter basıncı, sistolik arter basıncı, diyastolik arter basıncı ve QRS kompleksi genişliğine ait değerler .....	31
<b>Tablo 6.</b> Grupların arteriyel kan gazı analizine ait değerler .....	31
<b>Tablo 7.</b> Grupların ilk QRS değişikliği zamanı, ilk disritmi zamanı ve asistoli süreleri ...	34

<b>Şekil 1.</b> Lokal anestezi ilişkili kardiyotoksikite ile ilgili mekanizmaların şeması .....	12
<b>Şekil 2.</b> Sildenafil sitratın kimyasal yapısı.....	17
<b>Şekil 3.</b> Fosfodiesteraz tip5 inhibitörleri aracılığı ile oluşan kardiyoproteksiyonun mekanizması .....	21
<b>Şekil 4.</b> Nitrik oksit aksı ve pulmoner hipertansiyon tedavisinde potansiyel terapötik hedefler .....	22
<b>Şekil 5.</b> Oksijen insuflasyonu.....	24
<b>Şekil 6.</b> Kaudal ven kanülasyonu .....	24
<b>Şekil 7.</b> Ana karotid arter kanülasyonu .....	25
<b>Şekil 8.</b> Elektrokardiyografi elektrodlarının yerleştirilmesi .....	26
<b>Şekil 9.</b> <i>Biopac</i> mp35 poligraf sistemi ile elde edilen veriler .....	26
<b>Şekil 10.</b> <i>Biopac</i> mp35 poligraf sistemi ile kaydedilen disritmi .....	27
<b>Şekil 11.</b> <i>Biopac</i> mp35 poligraf sistemi ile kaydedilen QRS genişlemesi .....	27
<b>Şekil 12.</b> Grupların kalp atım hızında %25, %50 ve %75 azalma zamanları .....	32
<b>Şekil 13.</b> Grupların ortalama arter basıncında %25, %50 ve % 75 azalma zamanları.....	33
<b>Şekil 14.</b> Grupların ilk QRS değişikliği zamanı, ilk disritmi zamanı ve asistoli süreleri... 35	

## **KISALTMALAR**

<b>İP:</b>	İntraperitoneal
<b>İV:</b>	İntravenöz
<b>LA:</b>	Lokal anestezi
<b>SSS:</b>	Santral sinir sistemi
<b>KVS:</b>	Kardiyovasküler sistem
<b>ATP:</b>	Adenozin trifosfat
<b>K<sub>ATP</sub>:</b>	ATP bağımlı potasyum kanalları
<b>mitoK<sub>ATP</sub>:</b>	Mitokondriyal ATP bağımlı potasyum kanalları
<b>PDE5:</b>	Phosphodiesterase type 5 (Fosfodiesteraz tip 5)
<b>cGMP:</b>	Cyclic guanosine monophosphate (Siklik guanozin monofosfat)
<b>NOS:</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>Na<sup>+1</sup>:</b>	Sodyum
<b>K<sup>+1</sup>:</b>	Potasyum
<b>Ca<sup>+2</sup>:</b>	Kalsiyum
<b>EKG:</b>	Elektrokardiyografi
<b>AV blok:</b>	Atriyoventriküler blok
<b>VT:</b>	Ventriküler taşikardi
<b>VF:</b>	Ventriküler fibrilasyon
<b>cAMP:</b>	Cyclic adenosine monophosphate (Siklik adenozin monofosfat)
<b>AV Nod:</b>	Atriyoventriküler nod
<b>CPB:</b>	Cardiopulmonary bypass (Kardiyo pulmoner by-pass)
<b>PDE3:</b>	Phosphodiesterase type 3 (Fosfodiesteraz tip 3)
<b>NO:</b>	Nitrik oksit
<b>GTP:</b>	Guanozin trifosfat
<b>ATPaz:</b>	Adenozin trifosfataz
<b>PKG:</b>	Protein kinaz G
<b>mitoK<sub>Ca</sub>:</b>	Mitokondriyal kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları
<b>NaCl:</b>	Sodyum klorür
<b>KAH:</b>	Kalp atım hızı
<b>SAB:</b>	Sistolik arteriyel basınç

- DAB:** Diyastolik arteriyel basınç
- OAB:** Ortalama arteriyel basınç
- KAH % 25:** Kalp atım hızında % 25 azalma zamanı
- KAH % 50:** Kalp atım hızında % 50 azalma zamanı
- KAH % 75:** Kalp atım hızında % 75 azalma zamanı
- OAB % 25:** Ortalama arteriyel basınçta % 25 azalma zamanı
- OAB % 50:** Ortalama arteriyel basınçta % 50 azalma zamanı
- OAB % 75:** Ortalama arteriyel basınçta % 75 azalma zamanı



## **ÖZET:**

### **Sıçanlarda Bupivakain Kardiyotoksitesisi Üzerine Sildenafilin Etkilerinin Araştırılması**

Dr. Şenay Ayözen

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR

Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü olan sildenafilin kardiyoprotektif etkilerine yönelik çeşitli araştırmalar bulunmaktadır.

Bu deneysel çalışmada; anestezi altındaki sıçanlarda, bupivakain ile oluşturulan kardiyotoksitesite üzerine sildenafilin etkileri araştırılmıştır.

Wistar Albino cinsi sıçanlara İP 1 g.kg<sup>-1</sup> üretan ile anestezi uygulanmış, sonrasında kuyruk veni ve ana karotid arter kanülasyonları gerçekleştirilmiştir. Kanülasyonlar sırasındaki kan kaybı nedeniyle İV %0,9 sodyum klorür (0,5 mL) injeksiyonu ve 2 mL.sa<sup>-1</sup> infüzyonu uygulanmıştır. Deneysel çalışma sıçanların spontan solunumları korunarak gerçekleştirilmiştir.

Stabilizasyon döneminin ardından (15 dakika), yirmi dört sıçan eşit olarak 4 gruba ayrılmıştır. Grup 1'deki sıçanlara 200 µL İV bolus %0,9 sodyum klorür uygulanması sonrasında bupivakain infüzyonu (3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk.<sup>-1</sup>) başlanmıştır. Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'deki sıçanlara; sırasıyla, 0.01mg.kg<sup>-1</sup>, 0.1mg.kg<sup>-1</sup> ve 1mg.kg<sup>-1</sup> dozlarda, 100 µL volüm içinde İV sildenafil verilmesinin ardından 100 µL %0,9 sodyum klorür uygulanmış ve bu gruplarda asistoli gelişene dek 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk.<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonu uygulanmıştır.

Çalışma sonunda, kayıtlardan elde edilen aşağıdaki veriler değerlendirilmiştir: Kalp atım hızı ve ortalama arteriyel basınçta bazale göre %25, %50 ve %75 azalma zamanları, ilk QRS kompleksi değişikliği (QRS kompleksi süresinde %20'den fazla uzama) zamanı, ilk disritmi (arteriyel basınç trasesinde anormal sistolün eşlik ettiği ilk disritmi ve/veya 2.

ve 3. derece AV blok) zamanı ve asistoli (arteriyel basınç trasesinde nabız basıncı yokluğu) zamanı.

İsttistiksel analizler için Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney-U testleri kullanılmıştır.

Bazal arteriyel basınç ve kalp atım hızı değerleri ile QRS kompleksi süresi tüm gruplarda benzer bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Kalp atım hızında bazale göre % 25, % 50 ve % 75 azalma zamanları ve ortalama arteriyel basınçta % 50 ve % 75 azalma zamanları da tüm gruplarda benzer bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Grup 4'de ortalama arteriyel basınçta bazale göre % 25 azalma zamanı, Grup 1 ile kıyaslandığında anlamlı derecede kısa bulunmuştur ( $p=0.009$ ). Grup 2'de ilk disritmi ( $727.95 \pm 59.14$  sn), Grup 1'e ( $235.76 \pm 67.50$  sn) göre anlamlı derecede geç gözlenmiştir ( $p=0.002$ ). Asistoli zamanı tüm gruplarda benzer bulunmuştur.

Sonuç olarak; sıçanlarda bupivakain infüzyonu ile oluşturulan kardiyotoksitede, sildenafilin kardiyoprotektif etkiye sahip olabileceği kanısına varılmıştır. Bu konuda, daha çok sayıda denek ile ileri araştırmalara gereksinim vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Bupivakain, kardiyotoksite, sildenafil

## **SUMMARY:**

### **Investigation of the effects of Sildenafil on Bupivacaine Cardiotoxicity in Rats**

Senay Ayozen, MD. Dokuz Eylul University, School of Medicine,  
Department of Anesthesiology and Reanimation, IZMIR.

There are various studies about the cardioprotective effects of sildenafil which is an inhibitor of phosphodiesterase type 5.

In this experimental study; the effects of sildenafil on bupivacaine induced cardiotoxicity was investigated in anesthetized rats.

Wistar Albino rats were anesthetized with intraperitoneal urethane ( $1\text{gr.kg}^{-1}$ ), then and the cannulations of the tail vein and common carotid artery were performed. Intravenous 0.9% sodium chloride was injected administered ( $0.5\text{ mlmL}$ ) and infused at  $2\text{ml}2\text{ mL.h}^{-1}$  because of Because of blood loss during cannulations. Experimental study was performed while the rats were breathing spontaneously.

Following stabilization period (15 min), twenty four rats were equally divided into 4 groups.  $200\ \mu\text{L}$  IV bolus 0.9% sodium chloride was administered, then infusion of bupivacaine ( $3\text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ) was started to the rats in Group 1. Sildenafil with doses of  $0.01\text{ mg.kg}^{-1}$ ,  $0.1\text{ mg.kg}^{-1}$ , and  $1\text{ mg.kg}^{-1}$  in a volume of  $100\ \mu\text{L}$  IV given to the rats in Groups 2, 3 and 4, respectively. After then,  $100\ \mu\text{L}$  0.9% sodium chloride was administered and bupivacaine was infused at  $3\text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  continued until asystole occurred in these groups.

At At tTthe end of the study, the following events were evaluated from the recorded data; Times to 25%, 50% and 75% reduction of heart rate and mean arterial pressure relative to baseline, time to first QRS complex alteration (prolongation of QRS complex

duration by more than 20%), time to first dysrhythmia (first dysrhythmia accompanied by an abnormal systole on the arterial pressure trace and / or 2nd and 3rd degree AV conduction block), and time to asystole (the absence of pressure pulse on the arterial pressure trace).

Kruskal-Wallis and Mann-Whitney-U tests were used for the statistical analysis. All results were presented as mean  $\pm$  standard deviation. A value of  $p < 0.05$  was considered significant for Kruskal Wallis test; while a value of  $p < 0.01$  was considered significant for Mann-Whitney test.

Baseline arterial pressures, heart rate, duration of QRS complex were similar in all the groups ( $p > 0.05$ ). The reduction times in heart rate to 25%, 50% and 75 % and reductoin times in mean arterial pressure to 50% and 75% from the baseline were also similar in all the groups ( $p > 0.05$ ). In Group 4, reduction time of mean arterial pressure to 25% from the baseline was significantly shorter compared to Group 1 ( $p = 0.009$ ). In Group 2 ( $727.95 \pm 59.14$  s), the first dysrhythmia was observed significantly later than Group 1 ( $235.76 \pm 67.496$  s) ( $p = 0.002$ ). Time to asystole was similar in all groups ( $p > 0.05$ ).

In conclusion, sildenafil may have a cardioprotective effect during cardiotoxicity induced by bupivacaine infusion in rats. Further investigations are required with more subjects.

**Key Words:** Bupivacaine, cardiotoxicity, sildenafil

## GİRİŞ

Lokal anestezi (LA) ajanlar sinir hücre membranını stabilize ederek sinir iletimini geçici olarak bloke eden farmakolojik ajanlardır. Lokal anestezi uygulamalarında lokal ve sistemik toksik etkilerin yanı sıra alerjik yanıtlar da ortaya çıkabilmekte, gelişen mortalitenin sıklıkla kardiyak toksisite ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir.<sup>1-4</sup>

Lokal ve rejijonal anestezide kullanılan amid grubu bir lokal anestezi olan bupivakainin yanlılıkla intravenöz (İV) uygulanması ağır disritmilerin gelişmesine ve kardiyak arreste neden olabilmektedir.<sup>4</sup>

Bupivakain uygulanan olgularda santral sinir sistemi (SSS) ve kardiyovasküler sistem (KVS) üzerine olan toksik etkilerin voltaj bağımlı sodyum kanallarının ve ventriküler miyozitlerdeki adenosin trifosfat (ATP) bağımlı potasyum kanalları ( $K_{ATP}$ )'nın bloke edilmesi sonucu oluştuğu ifade edilmektedir.<sup>1,2,5-7</sup>

Mitokondriyal ATP bağımlı potasyum kanalları ( $mitoK_{ATP}$ )'nın açılmasının kardiyoprotektif etki oluşturduğunu bildiren bazı araştırmalara ek olarak, ATP bağımlı potasyum kanal açıcılarının bupivakain kardiyotoksitesisi üzerine yararlı etkileri olabileceği yönünde çalışmalar bulunmaktadır.<sup>8-10</sup>

Selektif bir fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) inhibitörü olan sildenafil sitrat (Viagra), erektil disfonksiyon ve pulmoner hipertansiyon sağaltımında kullanılan bir ajandır.<sup>11,12</sup> Sildenafil, selektif olarak PDE5 enziminin inhibisyonu yoluyla siklik guanozin monofosfat (cGMP) yıkımını önlemektedir.<sup>13</sup> Sildenafilin;  $mitoK_{ATP}$ 'nin açılması, nitrik oksit sentaz (NOS) izoformlarının indüklenmesi ve cGMP düzeyinin artışı ile açıklanabilecek kardiyoprotektif etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir.<sup>14-17</sup>

## **AMAC**

Bu deneysel çalışma; anestezi altındaki sıçanlarda, bupivakain ile oluşturulan kardiyotoksisite üzerine sildenafilin etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

## **GENEL BİLGİLER**

### **I. LOKAL ANESTEZİKLER**

Lokal anestezipler uygulandıları vücut alanında sinir iletimini geçici olarak bloke eden farmakolojik ajanlardır. 1860 yılında kokain alkaloidinin Neimann tarafından izole edilmesi ve lokal anestezi etkinin 1884 yılında Karl Köller tarafından gösterilmesinin ardından ilk lokal anestezi olan kokain klinik kullanıma girmiştir.<sup>18</sup>

Lokal anesteziplerin temel etki yeri sinir hücre membranıdır. Sinir hücresi veya lifinin istirahat ve eşik potansiyelini etkilemeyen, ancak sinir hücre membranını stabilize eden lokal anestezipler depolarizasyona engel olurlar. Başlangıçta elektriksel uyarılma eşiği yükselir, aksiyon potansiyelinin oluşumu gecikir ve iletim yavaşlar. Sonuç olarak iletim tamamen durur ve anestezi oluşur.<sup>18</sup>

Lokal anesteziplerin sinir hücre membranını nasıl stabilize ettikleri tam olarak bilinmemekle birlikte çeşitli mekanizmaları ileri sürülmektedir:<sup>18</sup>

1. Membrandaki fosfolipidlerle birleşerek sodyum ( $\text{Na}^{+1}$ ), potasyum ( $\text{K}^{+1}$ ) ve kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) iyonlarının membrandan geçişini önlerler.
2. Protein reseptörleri ile birleşerek, uyarıların reseptörlerin gözenek çapında yaptığı genişlemeyi önlerler.
3. Sodyum reseptörleri ile birleşerek sodyum kanallarını tıkırlar.
4. Membranın hidrokarbon bölgesine penetre olup sodyum kanallarını tıkırlar.

Sodyum kanalının durumu (istirahat, açık, inaktive fazlar); polarizasyon, depolarizasyon, repolarizasyon siklusu boyunca değişmektedir. Lokal anestezipler sodyum

kanallarının değişik fazlarında reseptörlere farklı düzeyde afinite gösterirler (açık > inaktive > istirahat). Aksiyon potansiyelinin yayılmasının depolarizasyon sıklığına bağlı olduğu ifade edilmekte, bu durumun açık fazdaki sodyum kanallarının lokal anesteziğin primer hedefi olduğu görüşünü desteklediği bildirilmektedir.<sup>19</sup> Sinirsel iletinin etkin bir şekilde bloke edilebilmesi için sodyum kanallarının yaklaşık %75'i inaktive olmalıdır.<sup>1</sup> Lokal anesteziğin, farmakolojik aktivitelerini yalnızca sodyum kanalları üzerinden değil, K<sup>+1</sup> ve Ca<sup>+2</sup> iyonları üzerinden de göstermektedirler.<sup>20,21</sup>

## II. LOKAL ANESTEZİKLERİN SİSTEMİK ETKİLERİ

Lokal anesteziğin terapötik etkileri dışında SSS ve KVS'de daha sık gözlenen bazı yan etkilere yol açabilirler.

### *a) KVS Üzerine Etkileri*

Lokal anesteziğin, sağlam miyokarda kontraktiletiyi, eksitabiletiyi ve iletim hızını azaltırlar. Miyokardın hasarlı liflerinde ise otomatizmi deprese ederek aritmileri önlerler. Bazı lokal anesteziğin kalsiyumla etkileşerek miyokardiyal kontraktiletiyi deprese ettikleri düşünülmektedir.<sup>18</sup>

Lokal anesteziğin damar düz kasları üzerine farklı etkiler gösterebilirler. Kokain vazokonstriksiyona neden olurken, diğer lokal anesteziğin değişik derecelerde vazodilatasyon yapmaktadır.<sup>2,5,18,22</sup> Bu direkt etkiler yanında sempatik bloğa bağlı olarak hipotansiyona; vazomotor merkezin uyarılması ile kardiyak *output* 'ta artışa, aşırı dozlarda ise miyokardiyal depresyona ve hipotansiyona neden olurlar.

### *b) SSS Üzerine Etkileri*

Lokal anesteziğin, kan-beyin engelini kolaylıkla aşabilir ve beyin dolaşımındaki lokal anesteziğin düzeyleri yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir. Bu durum medüller depresyon, apne, kardiyovasküler kollaps ve komaya kadar ilerleyebilen çeşitli SSS bulgularının ortaya çıkmasına yol açabilir.



### III. LOKAL ANESTEZİKLERE BAĞLI GELİŞEN TOKSİK REAKSİYONLAR

Lokal anestezipler uygun dozlarda ve doğru anatomik lokalizasyonda uygulandıklarında oldukça güvenlidirler. Yanlışlıkla intravasküler veya intratekal injeksiyon ya da yüksek doz lokal anestezi uygulaması durumunda lokal ve sistemik toksik reaksiyonlar gelişebilir.<sup>5</sup>

Lokal anestezipler ile oluşan sistemik toksik reaksiyon gelişme sıklığının 1981'den bu yana dramatik olarak azaldığı görülmektedir (Tablo 1). 1981'den sonra ciddi kardiyotoksik potansiyelinin farkına varılmış ve özellikle epidural anesteziye yönelik güvenli lokal anestezi uygulamalarına dikkat çekilmiştir.<sup>23</sup>

**Tablo 1.** Sistemik toksik reaksiyonların sıklığı<sup>23</sup>

Araştırmacı	Epidural	STR	Oran	PSB	STR	Oran
<b>1982 öncesi</b>						
<b>Blundell, 1955</b>	790	87	110			
<b>Bonica, 1957</b>	3,637	116	320			
<b>Moore, 1978</b>	6,729	13	20			
<b>Kenepp, 1981</b>	4,003	40	100			
<b>1982 sonrası</b>						
<b>Tanaka, 1993</b>	15,159	550	100*			
<b>Brown, 1995</b>	17,439	20	11	7,532	15	20
<b>Auroy, 1997</b>	16,870	2	1.2	21,278	16	7.5
	30,413	4	1.3			
	64,722	26	4*			
<b>Giaufre, 1996</b>	2,824	3	10	9,396	0	0
<b>Borgeat, 2001</b>				521	1	20

STR: Sistemik toksik reaksiyonlar; PSB: Periferik sinir bloğu

Oran: 10.000 sıklıkta

\*P< .001, Ki- Kare analizi

Farklı araştırma yöntemlerinin kullanılması, tanı hataları ve bildirilmeyen olguların bulunması nedeniyle gerçek toksisite insidansı henüz tam olarak bilinmemektedir.<sup>23</sup>

Lokal anestezi uygulamalarında gelişen sistemik toksik reaksiyonlar daha çok SSS ve KVS ile ilişkilidir. SSS, KVS'e göre lokal anesteziklerin toksik etkilerine karşı daha duyarlıdır. SSS toksisitesi oluşturan lokal anestezik dozları ve kan düzeyleri, sıklıkla dolaşım kollapsına neden olan dozlardan ve kan düzeylerinden daha düşüktür.<sup>5</sup>

#### ***a) Santral Sinir Sistemi Toksisitesi***

Lokal anestezikler sodyum kanal blokajı ile SSS'de iletimi inhibe ederek elektriksel aktiviteyi azaltmaktadırlar. Düşük dozlarda tüm lokal anestezikler antikonvülzan ve sedatif etkili olup, plazma düzeyi arttıkça SSS eksitasyonu oluşturmaktadırlar.<sup>1,2,24</sup> Sedasyon uygulanmayan bilinci açık olgulardaki SSS toksisitesi bulguları; baş dönmesi, uykuya eğilim, akut anksiyete veya ölüm korkusunu içermektedir.<sup>25</sup> Zaman geçtikçe tonik-klonik nöbetler ve kontrolsüz kas hareketleri ortaya çıkmakta, bilinç kaybı gelişebilmektedir.<sup>1</sup> Nöbetlerin, amigdale veya temporal lobtaki inhibitör kortikal nöronların depresyonununa bağlı geliştiği düşünülmektedir.<sup>26</sup> Nöbetlerin ardından sıklıkla solunum ve KVS depresyonu ile birlikte SSS depresyonu ortaya çıkmaktadır. Günümüzde SSS ve KVS toksisitesi daha düşük olan levobupivakain ve ropivakain gibi uzun etkili lokal anesteziklerin kullanıma girmiş olması klinik açıdan oldukça önemlidir.<sup>24,27-29</sup>

#### ***b) Kardiyovasküler Sistem Toksisitesi***

Lokal anestezikler, kalp ve periferik vasküler yapıları doğrudan etkilemekte, sempatik ve parasempatik efferent aktivitenin blokajı yolu ile de dolaşım üzerine indirekt etki göstermektedir.<sup>5</sup>

#### ***1. Direkt Kardiyak Etkiler***

Lokal anestezikler miyokard kontraktilesini, eksitabilitesini ve iletim hızını azaltarak aritmilere ve kontraktıl disfonksiyona neden olabilirler.<sup>30-33</sup> Kardiyak elektrofizyolojik etkileri farklılık göstermekle birlikte; lokal anestezikler primer olarak

Purkinje lifleri ve ventriküler kasların hızlı iletim oluşturan bölümlerinde depolarizasyon hızında azalmaya neden olmaktadır.<sup>5</sup>

Lokal anesteziklerin SSS ve KVS toksisite potensleri, ajanın anestezik potensini yansıtmaktadır.<sup>2,5</sup> Genel olarak KVS toksisitesi oluşması için, SSS toksisitesine göre, daha yüksek lokal anestezik dozlarına ihtiyaç vardır.<sup>1,2,5</sup>

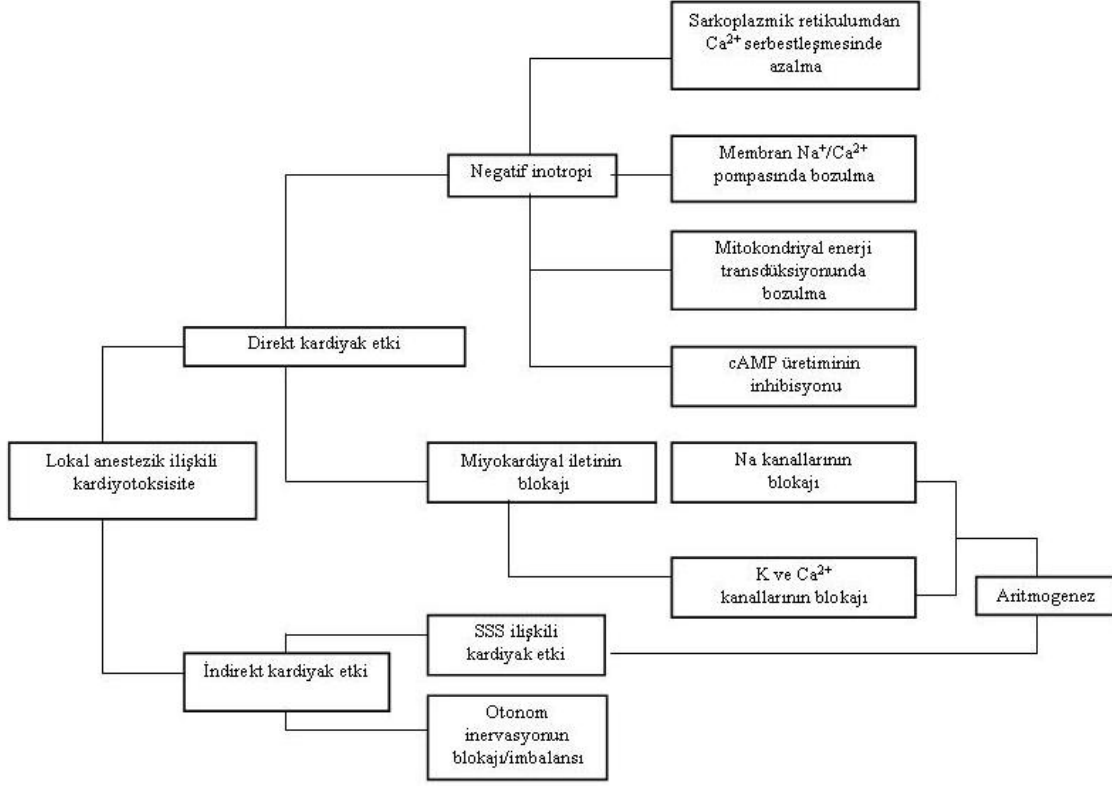
Son yıllarda kardiyotoksik etkileri sınıflandırılmış, potent ve lipofilik ajanlara (bupivakain, levobupivakain, etidokain, ropivakain) dikkat çekilmektedir. Potent lokal anestezikler, doz bağımlı olarak elektrokardiyografi (EKG)'de PR aralığında uzamaya ve QRS kompleksinde genişlemeye neden olurlar.<sup>3,6,34,35</sup> Bu durum, diyastolde sodyum kanallarının bloke kalmasıyla ilişkili olup atriyoventriküler blok (AV blok), ventriküler taşikardi (VT), ventriküler fibrilasyon (VF) gibi fatal aritmilere neden olabilir.<sup>5,6,34,35</sup> Lokal anesteziklerin çok yüksek konsantrasyonları, sinüs nodunda spontan *pacemaker* aktiviteyi baskılamakta, sinüs bradikardisine ve sinüs arrestine neden olmaktadır.<sup>5</sup>

Lokal anesteziklerin kardiyotoksisite sıralaması en azdan en fazlaya doğru prilokain < lidokain < mepivakain < ropivakain < levobupivakain < bupivakain < etidokain < tetrakain şeklindedir.<sup>34,36</sup> Kardiyotoksik etkiler sodyum, kalsiyum ve potasyum kanalları üzerinden oluşmakta, sıklık adenozin monofosfat (cAMP) üretimi üzerine olan inhibitör etkiler de kardiyotoksisiteye katkıda bulunmaktadır.<sup>1,2,5,32,37</sup>

Lokal anestezikler, sarkoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  serbestleşmesini azaltarak,  $Ca^{+2}$  akışını etkilemekte ve miyokardiyal kontraktileti bu yolla da baskılayabilmektedirler.<sup>5</sup>

Lokal anesteziğe bağlı gelişen toksisite kliniğinin eksitasyon evresinde ortaya çıkan taşikardi ve hipertansiyon nedeniyle, kardiyak depresan etkiler gizlenebilmektedir.<sup>3</sup> Konvülsiyon, asidoz ve hipoksi durumlarında miyokardiyal etkilenme daha belirgin hale gelmekte ve resüsitasyon güçleşmektedir.<sup>1,32</sup>

Lokal anestezi ilişkili kardiyotoksisite ile ilgili mekanizmalar şekil 1'de özetlenmiştir.<sup>37</sup>



Şekil 1. Lokal anestezi ilişkili kardiyotoksisite ile ilgili mekanizmaların şeması<sup>37</sup>

## 2. Direkt Periferik Vasküler Etkiler

Lokal anesteziyelikler periferik vasküler düz kaslarda bifazik etkilidirler. Yüksek konsantrasyonlarda kan akımına karşı direnç azalmakta, düşük konsantrasyonlarda ise vazokonstriksiyon oluşmaktadır.<sup>38</sup> Lokal anesteziyelik ajanlar pulmoner vasküler direnç artışına yol açabilmektedir.<sup>39</sup>

Lokal anesteziyeliklerin sempatik veya parasempatik sistem blokajı ile dolaşım sistemi üzerindeki etkileri indirekt yolla kardiyotoksisiteye katkıda bulunmaktadır.<sup>2,5</sup>

Bupivakain (Marcaine®) amid yapıda uzun etkili bir lokal anesteziiktir. Kimyasal yapısı; L-n Bütül-Piperidin 2 karboksil asid-2-6 dimetilanilid-Hidroklorik'tir<sup>40</sup>

Bupivakain KVS ve SSS'nde sistemik toksik etkiler oluşturabilir.<sup>2,5</sup> Yanlışlıkla yüksek doz bupivakain uygulanması, resüsitasyona dirençli ciddi kardiyovasküler kollapsa ve ventriküler aritmilere neden olabilir.<sup>4,41</sup> Bu durum, bupivakaini diğer uzun etkili lokal anesteziiklere göre daha az güvenilir kılmaktadır.<sup>1,37,42</sup>

Bupivakainin inaktive fazdaki sodyum kanallarına bağlanarak sodyum kanal blokajına yol açması kardiyotoksositeye neden olmaktadır.<sup>6</sup> Kalpte sistol sırasında sodyum kanallarına hızla giren bupivakain, diyastolde sodyum kanallarını daha yavaş terk etmekte ve kardiyak dokuda uzun süre etki göstermektedir. Bu mekanizma “*fast in slow out*” kinetiği olarak adlandırılmakta ve bupivakain ilişkili ventriküler aritmilerin resüsitasyona dirençli olması bu mekanizma ile açıklanmaktadır.<sup>1,23,34,43</sup>

Voltaj bağımlı potasyum kanallarının bupivakain tarafından bloke edilmesi kardiyak aksiyon potansiyeli süresini uzatarak kardiyotoksik etkiye katkıda bulunabilmektedir.<sup>7,44</sup> Bupivakain, ayrıca L-tipi kalsiyum kanallarını da bloke etmekte ve atriyoventriküler nod (AV nod)'da elektriksel iletimi yavaşlatmaktadır.<sup>45</sup>

İntravenöz bupivakain uygulaması, sıçanların *nucleus tractus solitarius*'larında nöral aktiviteyi azaltmakta ve KVS'in otonomik kontrolünü etkilemektedir.<sup>46</sup> İntraserebral bupivakain injeksiyonu da ani disritmi ve kardiyovasküler kollapsa neden olmaktadır.<sup>47</sup>

Bupivakainin otonomik ve vazomotor sistem üzerine olan periferik etkileri de kardiyovasküler toksisiteyi artırmaktadır. Sempatik refleksler üzerinde potent periferik inhibitör etki yaratan bupivakain, direkt vazodilatatör etki ile ileri derecede kardiyovasküler kollapsa yol açmaktadır.<sup>48,49</sup>

Hipoksi, hiperkapni ve asidoz, bupivakaine bağlı kardiyotoksisiteyi potansiyalize etmekte, metabolik stres durumlarında kardiyomiyozitlerde ve vasküler düz kaslarda yer alan  $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$  aktive olmaktadır.<sup>18,50-53</sup> Domuzlarda yapılan bir çalışmada, ATP bağımlı potasyum kanal açıcıları ile bupivakain ilişkili AV bloğun düzelmiş olması, kardiyovasküler sistemdeki bu kanalların bupivakain kardiyotoksisitesi için hedef olabildikleri görüşünü desteklemektedir.<sup>10</sup>

Kardiyotoksisite, bupivakainin hem direkt hem indirekt kardiyak etkilerinin bir sonucudur. Direkt etki ile oluşan VT, bradikardi, AV blok, hipotansiyon, ve kardiyak debi azalması, klinik kardiyotoksisite bulguları olarak tanımlanır. İndirekt etki ile ise sempatik kardiyak innervasyon blokajı ve SSS toksisite bulguları ortaya çıkabilir.<sup>18,50,51</sup>

Bupivakain ile oluşan SSS toksisitesinde; serebral korteksteki inhibitör yollar ve ileri dönemde SSS'nin tümü deprese olduğundan klinik bulgular önce stimülasyon daha sonra depresyonla karakterizedir. Kortikal uyarılma ile heyecan, huzursuzluk, baş ağrısı, baş dönmesi, kulaklarda uğultu, nistagmus, ağız çevresinde ve dilde uyuşma, titreme, kas seyirmeleri ve konvülsiyon; medullar merkezlerin uyarılmasıyla da arteriyel kan basıncı ve kalp atım hızında artma, takipne, düzensiz solunum, bulantı ve kusma görülebilir. SSS depresyonunun derecesine bağlı olarak oryantasyon bozukluğu, sedasyon, bilinç kaybı, arteriyel kan basıncında düşme, kalp atım hızında azalma, kardiyak ve solunumsal arrest gelişebilir.<sup>18,50,51</sup>

#### **IV. LOKAL ANESTEZİK DOZ AŞIMININ ÖNLENMESİ**

Lokal anestezi doz aşımının önlenmesi için; lokal anestezi ilacın cinsi, dozu, konsantrasyonu, uygulanacak blok tekniği çok dikkatli seçilmeli, ilgili bölgenin anatomisi iyi bilinmeli, hava yolu yönetimi ve kardiyak arrest olasılığı için hazırlıklı olunmalıdır.<sup>32</sup>

**a) Ön tedavi:**

Çeşitli deneysel arştırmalarda lokal anestezi doz aşımına sekonder olarak gelişebilecek konvülsiyon ve arrestlerin, benzodiyazepinler ile azaltılabileceği bildirilmiştir.<sup>54,55</sup>

**b) Test doz:**

Günümüzde damar içi hatalı uygulamaları ekarte ettirecek güvenilir bir klinik test bulunmamaktadır. İnjesiyon öncesi aspirasyon yapılması, ilacın bölünmüş dozlar halinde uygulanması veya test doz epinefrin kullanılması, halen arştırılan fakat tam olarak güvenli olmayan yöntemlerdir.<sup>56</sup> Test doz uygulanan olgularda gelişebilen taşikardiyi geciktireceği için, opioid tedavisi önerilmemektedir.<sup>32</sup>

## **V. LOKAL ANESTEZİK TOKSİSİTESİNDE TEDAVİ**

Lokal anestezi toksisitesine yönelik tedavideki asıl amaç; miyokardiyal depresyon ve aritmileri düzeltmek, destek tedavi ile resüsitasyona yönelik başarı şansını artırmaktır.<sup>32</sup>

Feldman ve ark.<sup>57</sup> köpeklerde yaptıkları bir çalışmada, yüksek doz bupivakaine bağlı gelişen kardiyovasküler kollapsın tedavisinde epinefrin kullanımının tartışmalı olduğunu vurgulamakla birlikte, direkt kardiyak etkileri daha az olan fenilefrin gibi vazopressör ilaçların lokal anestezi ilişkili hipotansiyonun tedavisinde daha yararlı olabileceğini belirtmişlerdir. Kulier ve ark.<sup>58</sup> yüksek doz bupivakain sonrasında epinefrinin nadiren disritmiye neden olduğunu, Lacombe ve ark.<sup>59</sup> ise izoproterenolün elektrofizyolojik olarak düzelmeye sağladığını bildirmektedir. Lokal anestezi toksisitesine bağlı kardiyak depresyonda amiodaron ve vazopressin ile olumlu sonuçlar elde edildiği ifade edilmektedir.<sup>32</sup>

Profilaktik olarak uygulanan klonidin, bupivakaine bağlı gelişen sistemik toksisitede, disritmi eşiğini yükseltmekte, ancak; hipotansiyondan korumamaktadır.<sup>60</sup> Köpeklerde yapılan bir çalışmada klonidin, dobutamin ile birlikte uygulandığında olumlu sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir.<sup>61</sup>

Çeşitli hayvan çalışmalarında propranolol ile yapılan ön tedavinin bupivakaine bağlı olarak gelişen kardiyotoksisiteyi azalttığı; glukoz, insülin ve potasyum infüzyonunun miyokardiyal depresyonu düzelttiği ifade edilmektedir.<sup>62-64</sup>

Lokal anestezi ajanlarla oluşan kardiyotoksisite tedavisinde yeni bir yaklaşım olan İV lipid uygulamasının yararlı etkileri bildirilmektedir.<sup>65,66</sup>

Soltész ve ark.<sup>67</sup>'nin yayınladığı bir olgu sunumunda, refrakter bupivakain kardiyotoksitesinde *kardiyo pulmoner by-pass* (CPB)'ın başarılı resüsitasyon için uygun fakat invaziv bir seçenek olduğu vurgulanmaktadır.

Lokal anestezi toksisitesi tedavisinde beta adrenoreseptör antagonistleri, kalsiyum kanal blokerleri ve lidokain gibi lokal anestezi ajanların kullanımı kontrendike olarak kabul edilmekte, fosfodiesteraz inhibitörlerinden olan amrinon ve milrinon uygulamalarına yönelik çelişkili sonuçlar bildirilmektedir.<sup>32,68-70</sup>

Lokal anesteziye bağlı toksik reaksiyonlardan kaçınabilmek için gereken öneriler genel olarak; bölünmüş dozlarda injeksiyon, uygunsuz intravasküler injeksiyondan kaçınma, injeksiyon süresince vital bulguların izlenmesidir.<sup>32,71,72</sup>

## **VI. FOSFODİESTERAZ TİP 5 İNHİBİTÖRLERİ**

Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri, PDE5 enziminin aktif inhibisyonu ile cGMP artışı sonucu penis düz kaslarında gevşemeye neden olmaları nedeniyle erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan vazoaktif ilaçlardır.<sup>73,74</sup>

Memeli dokularında on bir farklı fosfodiesteraz enzim grubu tanımlanmıştır.<sup>75</sup> İmmünohistokimyasal çalışmalarda trombositlerde, vasküler ve bronşiyal düz kaslarda PDE5 varlığı gösterilmiştir.<sup>76</sup> PDE5, köpek ve fare kalbinde de bulunmaktadır.<sup>77,78</sup>

Sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer), erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan ilk PDE5 inhibitörüdür.<sup>73</sup> Son yıllarda bu gruptan iki ilaç daha; tadalafil (Cialis) ve vardenafil



(Levitra) kullanıma girmiştir.<sup>76</sup> Vardenafilin, tavşanlarda intrakavernozal basıncı sildenafille göre daha hızlı, daha güçlü ve daha uzun süreli artırdığı gösterilmiştir.<sup>79</sup> Klinik çalışmalar birden fazla etyolojik nedenli erektil disfonksiyonda vardenafilin yüksek etkinliğe ve düşük yan etki profiline sahip olduğunu göstermektedir.<sup>74</sup>

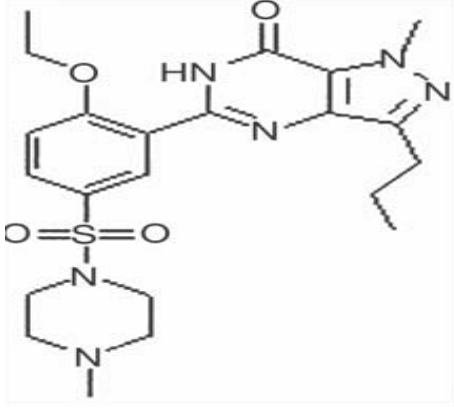
Tavşanlarda fosfodiesteraz tip 3 (PDE3) inhibitörü cilostazol ile yapılan bir çalışmada, cilostazolün mitokondriyal kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları aracılığıyla kardiyoprotektif etki oluşturduğu bildirilmekte;<sup>80</sup> sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada da PDE3 inhibitörü olan olprinonun kardiyoprotektif etkilerinin olduğu ifade edilmektedir.<sup>81</sup> Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar PDE3 inhibitörlerinin cAMP hidrolizini bloke ederek inotropik ve/veya vazodilatatör etki oluşturduğunu, kardiyak yetmezlikte hemodinamik iyileşme sağladığını ve kardiyoprotektif etkileri olduğunu göstermektedir.<sup>82,83</sup>

## VII. SILDENAFİL

Sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer), erektil disfonksiyonlu ve pulmoner hipertansiyonlu hastaların tedavisi için *U.S. Federal Drug Administration* tarafından onaylanan ilk PDE5 inhibitörüdür.<sup>73,84</sup>

Sildenafil 1989'da koroner kalp hastalığı tedavisinde PDE5'in etkilerini araştıran çalışmalar sırasında keşfedilmiştir. 1990'ların erken dönemlerinde sildenafil üzerinde yapılan çalışmalar, ilacın antianjinal potansiyeli açısından ümit verici olmamakla birlikte antiimpotans etkinin tesadüfen bulunması sildenafilin erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bir ajan olarak onaylanmasına yol açmıştır.<sup>85</sup>

Fosfodiesteraz tip 5'in cGMP üzerinden seçici inhibitörü olan sildenafil sitratın kimyasal yapısı 1-[[3-(6,7- dihidro -1- metil -7- okso -3- propil-1 Hpirazolo [ 4,3-*d*] pirimidin -5- il) -4-etoksifenil] sülfonil] -4- metilpiperazin sitrat şeklindedir (Şekil 2)<sup>76</sup>. Sudaki çözünürlüğü 3.5 mg.mL, molekül ağırlığı 666.7 olan, rengi beyazdan hafif gri-beyaza doğru değişen billursu bir tozdur. VIAGRA (sildenafil sitrat) piyasada 25, 50, 100mg'lık tabletler halinde bulunmaktadır.<sup>86</sup>



**Şekil 2.** Sildenafil sitratın kimyasal yapısı<sup>76</sup>

Cinsel bir uyarana yanıt olarak korpus kavernozum yakınındaki endotelial hücrelerden salınan nitrik oksit (NO), guanilat siklaz enziminde yapısal değişikliklere neden olur. Bunun sonucunda guanozin trifosfat (GTP)'tan cGMP yapımı artar ve korpus kavernozumda düz kas gevşemesi gerçekleşir.<sup>87</sup>

Siklik guanozin monofosfat, kasın kasılması için gerekli olan kalsiyumun hücredeki artışını inhibe etmektedir. Bu durum, sitozolik kalsiyumun izolasyonunun artması, kalsiyum salınımının inhibisyonu, kalsiyuma bağımlı adenozin trifosfataz (ATPaz)'ın fosforilasyonu ve aktivasyonu gibi birkaç yol ile gerçekleşir. cGMP'nin miyozin hafif zincirini defosforillelediği ve direkt olarak kas kasılmasını etkilediği yönünde başka bir mekanizma da tanımlanmıştır.<sup>88</sup> Cinsel uyarı devam ettiği sürece, parçalanmış cGMP ortamdaki NO'nun indüklediği cGMP ile yenilenmektedir.

Sildenafil sitrat PDE5 enzim inhibisyonu yoluyla kan basıncının dozdan bağımsız olarak düşmesine yol açar.<sup>86</sup> Sildenafilin vasküler düz kasta, protein kinaz G (PKG) bağımlı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanallarının aktivasyonu aracılığı ile vazodilatasyon sağladığı bilinmektedir.<sup>89</sup>

Fosfodiesteraz tip 5'in çeşitli dokulardaki varlığının tanımlanması, farmakologları sildenafilin afrodisyak olarak kullanımından başka yeni indikasyonlar için ümitlendirmiştir. Son beş yılda gerçekleştirilen birçok deneysel çalışmada (Tablo 2),

sildenafilin iskemi reperfüzyon hasarına ait *preconditioning*-benzeri güçlü bir kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.<sup>14-16,90,91</sup>

**Tablo 2.** Sildenafilin kardiyoprotektif etkileri ile ilişkili deneysel çalışmalar<sup>92</sup>

Araştırmacı	Yıl	Denek	Doz	Bulgular	Mekanizma	Etki
Ockaili ve ark.	2002	Tavşan	0.7 mg/kg	İnfarkt boyutunda anlamlı azalma	K <sub>ATP</sub>	Akut ve gecikmiş kardiyoprotektif etki
Salloum ve ark.	2003	Fare	0.7 mg/kg	Kardiyak fonksiyonlarda etkilenme olmaksızın infarkt boyutunda anlamlı azalma	iNOS/eNOS	Kardiyoprotektif etki
Reffelmann ve ark.	2003	Tavşan	1.45 mg/kg	İskemik olmayan koşullarda sol ventrikül dP/dt (maks.) ve dP/dt (min.) değerlerinde azalma; iskemi sürecinde ise; iskemik sol ventrikül end-diyastolik basınçta değişim olmaksızın infarkt boyutunda akut ılımlı derecede azalma	-	Akut kardiyoprotektif etki
Das ve ark.	2002	Sıçan	0.001 mg/kg – 0.5 mg/kg	VF ve MI sıklığında azalma	cGMP	Akut kardiyoprotektif etki
Bremer ve ark.	2005	Tavşan	0.7 mg/kg	LVCO’da değişiklik olmaması, LVCO ve VTI’de yükselme, infarkt boyutunda anlamlı azalma	-	Akut kardiyoprotektif etki

dP/dt: Sistol sırasında; zamana karşı sol ventrikül basıncında oluşan pozitif ve negatif değişiklik; VF: Ventriküler fibrilasyon; MI: Miyokard infarktüsü; LVCO: Sol ventrikül kardiyak *output*; VTI: Velocity time integral (Zaman-hız integrali); K<sub>ATP</sub>: ATP bağımlı potasyum kanalları; iNOS/ eNOS: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz/Endotelial nitrik oksit sentaz; c GMP: Siklik guanozin monofosfat

## VIII. SİLDENAFİL İLİŞKİLİ KARDİYOPROTEKSİYON

Kardiyoproteksiyon; primer göstergeleri miyosit ölümü, aritmi ve kontraktıl disfonksiyon olan akut miyokard infarktüsü ve reperfüzyon ile ilişkili hasarın önlenmesi olarak tanımlanmaktadır.<sup>93</sup>

Çeşitli deneysel çalışmalarda, sildenafilin iskemi reperfüzyon hasarına karşı *preconditioning* benzeri kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.<sup>14,15,16,76</sup> Sildenafilin mitoK<sub>ATP</sub>'nin açılması yolu ile infarkt alanını küçülttüğü, NO yolu ile de sistemik ven ve epikardiyal koroner arterlerin dilatasyonunu sağlayarak güçlü bir kardiyoproteksiyon oluşturduğu belirtilmektedir.<sup>14</sup>

Sol ventrikül disfonksiyonu olan hastalarda yapılan bir çalışmada sildenafilin kardiyak performans üzerine olumlu etkileri bildirilmektedir.<sup>94</sup>

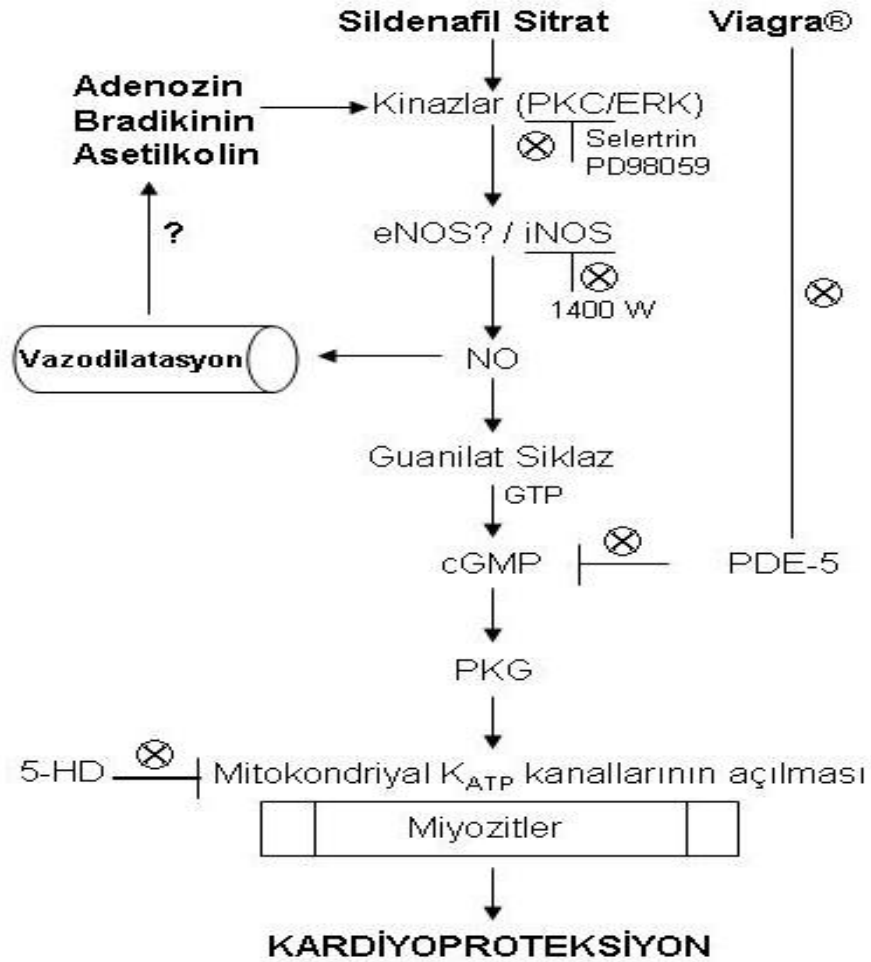
Sildenafil nitrik oksit sentezini ve kompleks hücre sinyal iletim kaskadını tetikleyerek doksorubisinin kardiyotoksik etkisiyle gelişen miyofibril hasarlarına, iskemi reperfüzyon sonucunda oluşan nekroz ve apoptotik hücre ölümüne karşı miyokardiyal koruma sağlamaktadır.<sup>14,15,76,78,95</sup>

Mitokondriyal kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalları (mitoK<sub>Ca</sub>) , mitoK<sub>ATP</sub> ile uyum içinde aktivite göstererek mitokondriyal membran potansiyelinin kaybına karşı koruma sağlamaktadır.<sup>96</sup> Sildenafilin, mitoK<sub>Ca</sub> ve mitoK<sub>ATP</sub>'nin her ikisinin de açılması aracılığı ile kardiyoprotektif etki gösteren ilk ilaç olduğu belirtilmekte; ancak, mekanizma tam olarak bilinmemektedir.<sup>97</sup>

## IX. SİLDENAFİL İLİŞKİLİ KARDİYOPROTEKSİYONDA SİNYAL İLETİMİ

İskemi-reperfüzyon hasarına karşı sildenafil ile oluşturulan kardiyoprotektif etkinin, K<sub>ATP</sub>'nin açılmasına bağlı olduğu bilinmektedir.<sup>14</sup> Sildenafil, endotel hücrelerinde adenozin

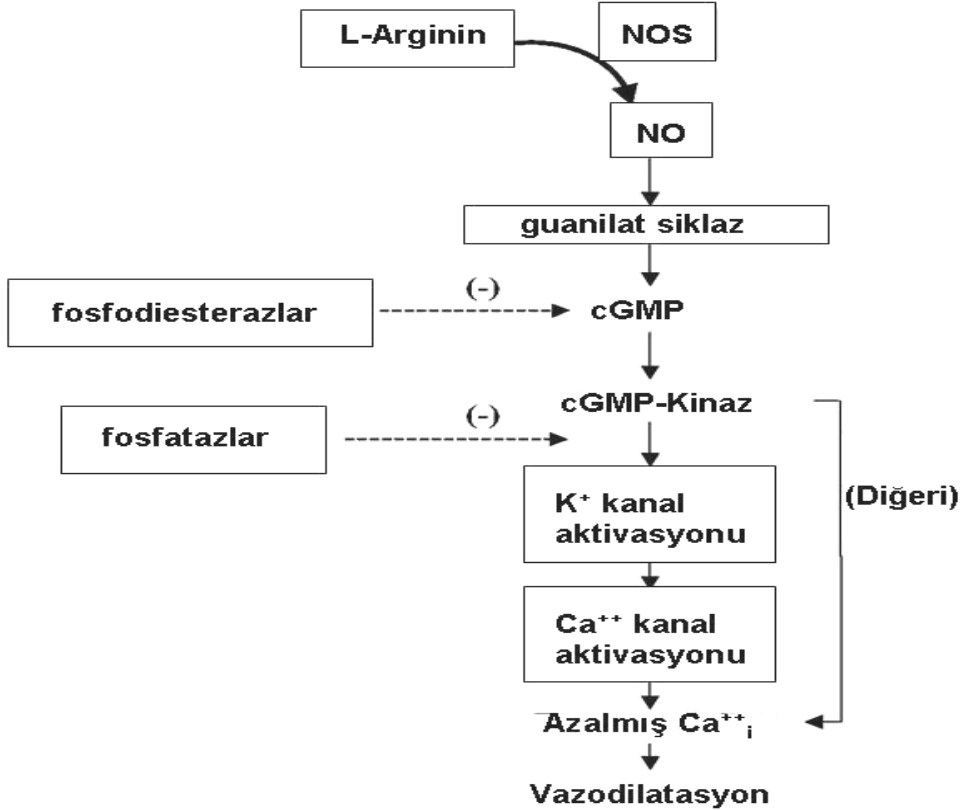
ve/veya bradikinin gibi mediyatörlerin salınımını potansiyalize ederek kardiyak miyozitlerde sinyal ileti kaskadını tetikleyebilmektedir. Kinazların aktive olması NOS (endotelial nitrik oksit sentaz / indüklenebilir nitrik oksit sentaz) (eNOS / iNOS)'ın fosforilasyonu ve NO salınımı ile sonuçlanmakta, NO guanilat siklaz aktivasyonu ile cGMP oluşumuna katkıda bulunmaktadır. cGMP ise PKG'yi aktive etmekte ve mitoK<sub>ATP</sub>'nin açılmasını sağlamaktadır<sup>98,99</sup> (Şekil 3).<sup>100</sup>



**Şekil 3.** Fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri aracılığı ile oluşan karditoproteksiyonun mekanizması<sup>100</sup>

Nitrik oksit'in pulmoner vazodilatatör etkisi; pulmoner arteriyel düz kas hücrelerinde yer alan sarkolemmal potasyum kanallarının cGMP-kinaz aracılığı ile aktivasyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır.<sup>101,102</sup> (Şekil 4)<sup>102</sup>. PDE5'i selektif olarak inhibe eden sildenafil sitrat (Revatio, Pfizer), cGMP düzeyini artırmakta ve NO ilişkili

vazodilatasyonun potansiyalize olmasına yol açmaktadır.<sup>103</sup> Sildenafil sitrat, pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etki göstermektedir.<sup>104</sup> Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, pulmoner hipertansiyonlu hastalarda yapılan çalışmalar ve idiyopatik pulmoner hipertansiyonlu hastaları içeren randomize kontrollü çalışmalar, pulmoner hipertansiyon tedavisinde sildenafilin yararlı olduğunu ortaya koymuştur.<sup>102,105-111</sup>



Şekil 4. NO aksı ve pulmoner hipertansiyon tedavisinde potansiyel terapötik hedefler<sup>102</sup>

## X. SIÇANLARIN BİYOLOJİK PARAMETRELERİ

Günümüzde biyomedikal araştırmalarda sıklıkla kullanılan sıçanların temel biyolojik parametreleri Tablo 3'de sunulmuştur.<sup>112</sup>

Tablo 3. Sıçanların temel biyolojik parametreleri<sup>112</sup>

Parametre	Değer
Yaşam süresi (yıl)	2.5-3.5

Rektal vücut ısı (°C)	35.9-37.5
Vücut ağırlığı (gr)	250-520
Kalp atım hızı (atım/dk)	250-450
Sistolik arter basıncı (mmHg)	88-184 (116)
Ortalama arter basıncı (mmHg)	78-171 (99)
Diyastolik arter basıncı (mmHg)	58-145 (90)

---

## **GEREC VE YÖNTEM**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu izni alındıktan sonra Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen bu randomize, kontrollü araştırmada, Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan sağlanan ve ağırlıkları 300-350 gr arasında değişen 24 adet erişkin erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Denekler üç gün süreyle oniki saat aydınlık-oniki saat karanlıkta barındırılarak ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortama adaptasyonları sağlandı. Standart sıçan gıdası (pellet yemi) ile beslenen deneklere sıvı kısıtlaması uygulanmadı. Deneyden 12 saat önce aç bırakılan sıçanların sadece su içmelerine izin verildi. Çalışma süresince DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nın önerdiği bakım ve uygulama rehberine uyuldu.

Sıçanlarda anestezi intraperitoneal (İP) 1g.kg<sup>-1</sup> Üretan (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, ABD) ile sağlandı. Operasyon masasına alınan deneklere 6 L.dk O<sub>2</sub> insuflasyonu uygulanarak supin pozisyonda ekstremiteleri sabitlendi. Spontan solunumları korunan sıçanlara 24 Gauge iv kanül (Bıçakçılar, İstanbul / Türkiye) ile kaudal venöz kanülasyon gerçekleştirildi. İnvaziv arteriyel kan basıncı, ana karotid arter kanülasyonu (24 Gauge iv kanül) (Bıçakçılar, İstanbul / Türkiye) uygulanarak izlendi (Şekil 5-7).



**Şekil 5.** Oksijen insuflasyonu



**Şekil 6.** Kaudal ven kanülasyonu



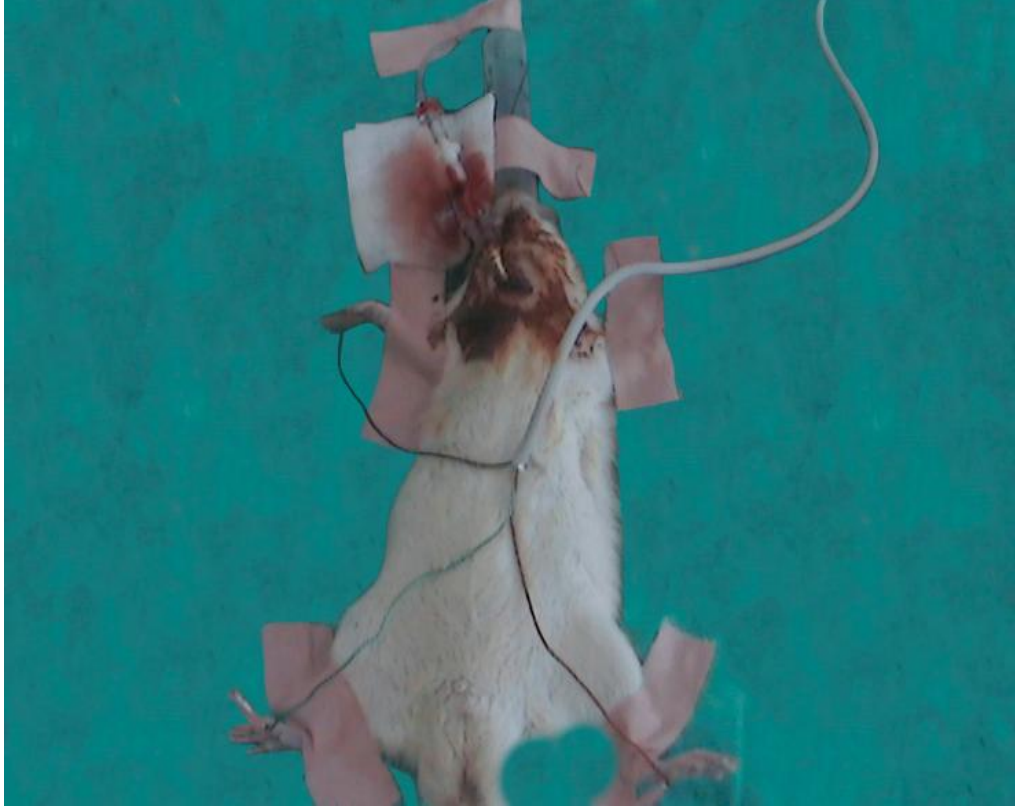


**Şekil 7.** Ana karotid arter kanülasyonu

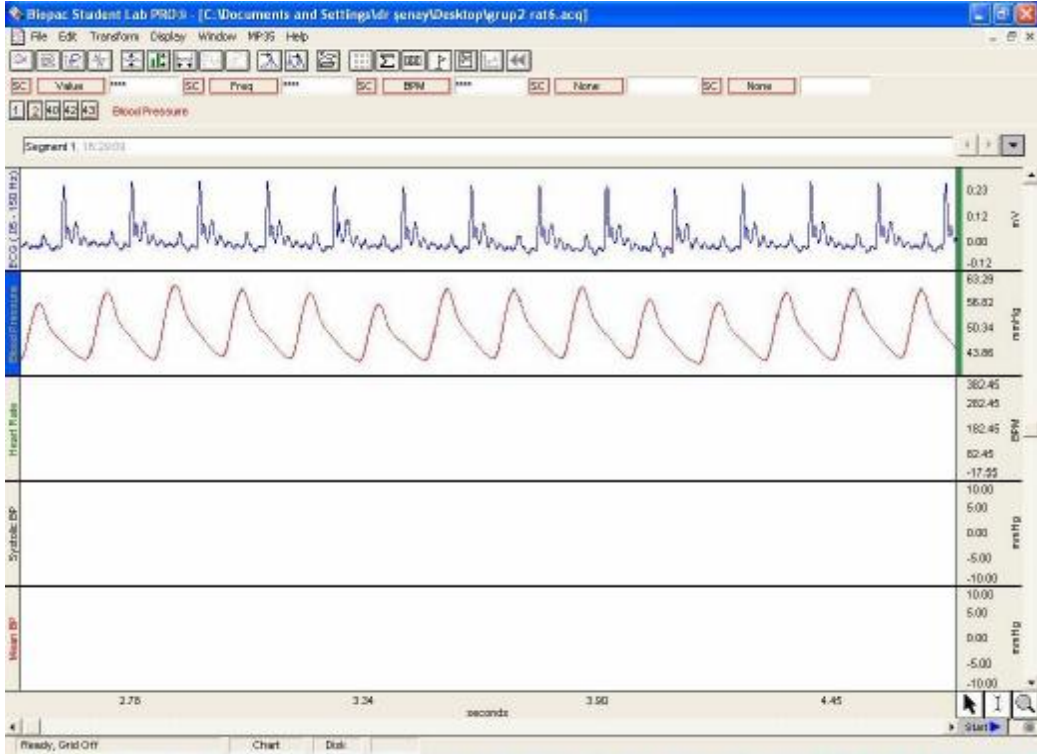
Deneklere venöz ve arteriyel kanülasyonlar sırasında oluşan kan kaybını karşılamak amacıyla İV bolus 0,5 mL %0,9 sodyum klorür (NaCl) uygulanmasının ardından, 2 mL.sa<sup>-1</sup> İV %0,9 NaCl infüzyonuna (*B.BRAUN secura*) başlandı.

Sıçanların vücut sıcaklıkları rektal termometre (May 9404 – A Commat, İstanbul / Türkiye) ile ölçüldü. Çalışma boyunca eksternal ısıtıcı lamba ile sıçanların normotermik (37<sup>0</sup>C) olması sağlandı.

İnvaziv arteriyel kan basıncı monitorizasyonu arteriyel kanüle bağlanan basınç transdüseri (*Pressure Monitoring Set*, Bıçakçılar, İstanbul / Türkiye) aracılığı ile gerçekleştirildi. EKG monitorizasyonunu gerçekleştirebilmek için sağ el, sol ayak ve sağ ayağa iğne elektrodlar (Şekil 8) yerleştirildi. Kalp atım hızı ve ritmi D2 derivasyonunda izlendi. EKG monitorizasyonu ve invaziv arter basıncına ait değerler *Biopac* mp35 poligraf sistemi ve *BSL PRO software* programı aracılığı ile kaydedildi (Şekil 9-11).



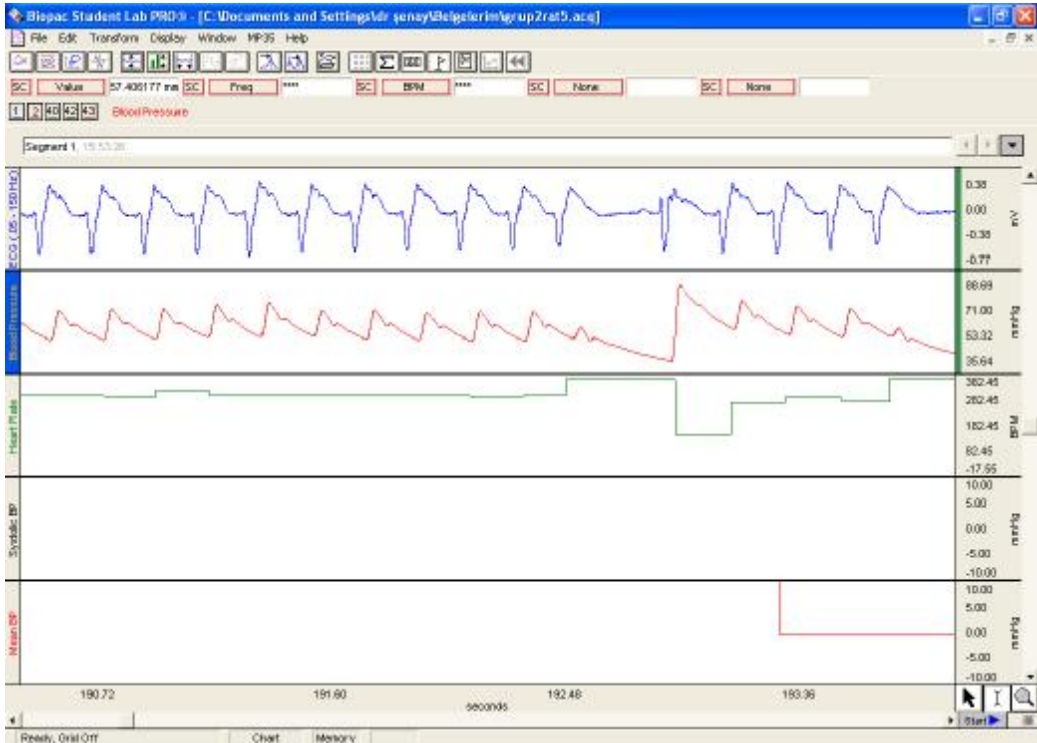
Şekil 8. EKG elektrodlarının yerleştirilmesi



Şekil 9. Biopac mp35 poligraf sistemi ile elde edilen veriler



Şekil 10. Biopac mp35 poligraf sistemi ile kaydedilen disritmi



Şekil 11. Biopac mp35 poligraf sistemi ile kaydedilen QRS genişlemesi

15 dakikalık bir stabilizasyon döneminin ardından kalp atım hızı (KAH), sistolik arteriyel kan basıncı (SAB), diyastolik arteriyel kan basıncı (DAB), ortalama arteriyel basınç (OAB), QRS kompleksi genişliği ve arteriyel kan gazı analizi ile elde edilen bazal değerler (*Nova Biomedical Corporation 200 Prospect Street Waltham, Massachusetts, ABD*) kaydedildi. Deney süresince oksijen insüflasyonu uygulanan sıçanlar spontan solunumda izlendi.

Sildenafil sitrat İV formunun ticari preparatı olmaması nedeniyle, çalışmada kullanılan etken madde *Pfizer* İlaçları Ltd.Şti. İstanbul-Türkiye tarafından sağlandı. Sildenafil sitrat 100 µL'lik total volümde, 0.01mg.kg<sup>-1</sup>, 0.1mg.kg<sup>-1</sup> ve 1mg.kg<sup>-1</sup> olacak şekilde %0.9 NaCl ile sulandırılarak her bir denek için ayrı ayrı hazırlandı.

DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı görevlileri tarafından standardize edilmiş ortamdan rastgele seçilen sıçanlar, her grupta altı denek olacak şekilde dört grupta çalışmaya alındı.

**Grup 1'de** (n=6) 200 µL İV bolus %0,9 NaCl uygulamasının ardından İV 3mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonuna başlandı.

**Grup 2'de** (n=6) 100 µL 0.01 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer) + 100 µL İV %0,9 NaCl uygulamasının ardından İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonuna başlandı.

**Grup 3'de** (n=6) 100 µL 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer) + 100 µL İV %0,9 NaCl uygulamasının ardından İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonuna başlandı.

**Grup 4'de** (n=6) 100 µL 1 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer) + 100 µL İV %0,9 NaCl uygulamasının ardından İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonuna başlandı.

Deneklerde asistoli gelişene kadar İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonuna devam edildi.

Çalışma boyunca elde edilen veriler kaydedilerek bazal değere göre KAH ve OAB'nda (%25, %50, %75) değişim zamanları, ilk QRS değişikliği zamanı (QRS kompleksi genişliğinde %20'den fazla uzama olması), ilk disritmi (arteriyel basınç

trasesinde anormal sistole eşlik eden disritmi ve/veya 2.,3. derecede AV blok gelişmesi) zamanı ve asistoli süreleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

### **İstatistiksel analiz**

Çalışma sonuçları “*SPSS 15,0 for Windows*” paket programına yüklenerek değerlendirildi. İstatistiksel yöntem olarak tüm grupların değerlendirilmesinde “*Kruskal – Wallis*” Testi, gruplar arasında istatistiksel fark saptandığında farkın hangi gruptan kaynaklandığının anlaşılması için “*Mann Whitney-U*” Testi kullanıldı. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (ort. $\pm$ ss) olarak gösterildi. Tüm grupların karşılaştırılmasında  $p<0.05$ ; istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu zaman farkın hangi gruptan kaynaklandığının saptanmasında ise  $p< 0.01$  değeri anlamlı kabul edildi.

## **BULGULAR**

Anestezi altındaki sıçanlarda, bupivakain ile oluşturulan kardiyotoksisite modelinde sildenafilin etkilerini araştırdığımız bu deneysel çalışmanın İV ve arteriyel kanülasyon aşamasında 8 sıçan kan kaybı nedeniyle ölmüş, DEÜTF Halk Sağlığı Anabilim Dalı istatistik uzmanlarının ve Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı sorumlu öğretim üyesinin denek sayısını yeterli bulmaları üzerine başlangıçta planlanan 32 sıçan yerine toplam 24 denek ile çalışma tamamlanmıştır.

Deneklerin vücut ağırlığı ortalama değerleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Deneklerin vücut ağırlıklıkları (ort.  $\pm$  ss)

<b>Gruplar</b>	<b>Vücut Ağırlıkları (g)</b>
<b>Grup 1 (n=6)</b>	324.83 $\pm$ 22.64
<b>Grup 2 (n=6)</b>	321.50 $\pm$ 15.48
<b>Grup 3 (n=6)</b>	322.50 $\pm$ 19.03
<b>Grup 4 (n=6)</b>	324.17 $\pm$ 10.70

Bazal KAH, OAB, SAB, DAB ve QRS kompleksi genişliği değerleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 5).

**Tablo 5.** Deneklerin bazal kalp atım hızı, ortalama arter basıncı, sistolik arter basıncı, diyastolik arter basıncı ve QRS kompleksi genişliğine ait değerler (ort.  $\pm$  ss )

	<b>GRUP 1</b> (n=6)	<b>GRUP 2</b> (n=6)	<b>GRUP 3</b> (n=6)	<b>GRUP 4</b> (n=6)	<b>P</b>
<b>KAH</b> (atım/dk)	398.66 $\pm$ 77.30	398.55 $\pm$ 41.44	397.45 $\pm$ 42.61	417.26 $\pm$ 32.33	0.739
<b>OAB</b> (mmHg)	98.96 $\pm$ 17.83	92.38 $\pm$ 24.43	98.43 $\pm$ 23.31	79.40 $\pm$ 18.54	0.330
<b>SAB</b> (mmHg)	108.71 $\pm$ 19.10	100.82 $\pm$ 24.52	107.23 $\pm$ 24.17	86.68 $\pm$ 21.40	0.277
<b>DAB</b> (mmHg)	87.95 $\pm$ 15.75	84.41 $\pm$ 23.07	88.92 $\pm$ 21.46	71.21 $\pm$ 16.17	0.279
<b>QRS</b> <b>Genişliği</b> (sn)	0.023 $\pm$ 0.002	0.024 $\pm$ 0.002	0.0230 $\pm$ 0.028	0.024 $\pm$ 0.022	0.796

KAH: Kalp atım hızı; OAB: Ortalama arter basıncı; SAB: sistolik arter basıncı; DAB: diyastolik arter basıncı

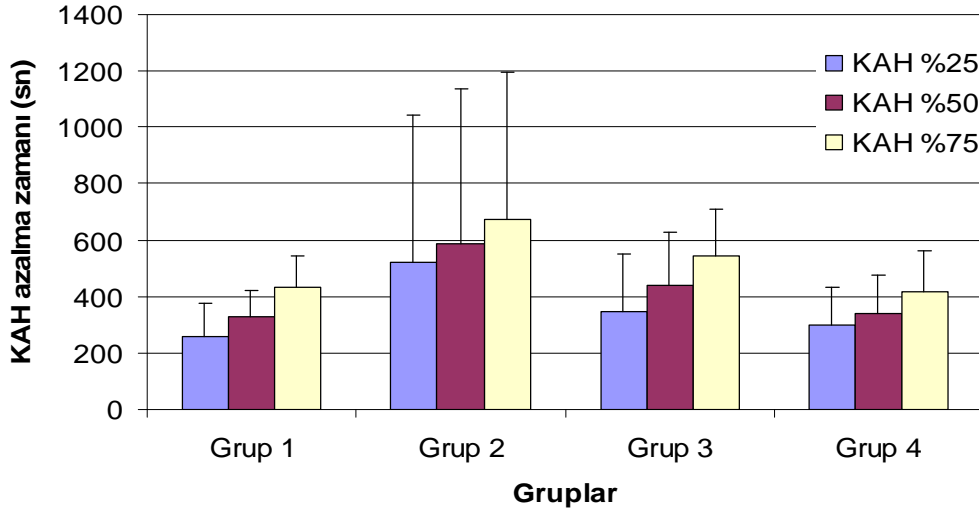
Gruplar arasında arteriyel kan gazına ait değerler (pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub> değerleri) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( Tablo 6).

**Tablo 6.** Grupların arteriyel kan gazı analizine ait değerler (ort.  $\pm$  ss)

	<b>GRUP 1</b> (n=6)	<b>GRUP 2</b> (n=6)	<b>GRUP 3</b> (n=6)	<b>GRUP 4</b> (n=6)	<b>P</b>
<b>pH</b>	7.35 $\pm$ 0.03	7.40 $\pm$ 0.07	7.38 $\pm$ 0.07	7.40 $\pm$ 0.03	0.243
<b>PCO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	39.31 $\pm$ 5.61	32.56 $\pm$ 8.87	35.88 $\pm$ 6.98	34.50 $\pm$ 6.56	0.478
<b>PO<sub>2</sub></b> (mm Hg)	215.31 $\pm$ 34.23	269.63 $\pm$ 68.92	308.31 $\pm$ 81.04	222.13 $\pm$ 91.35	0.174

PCO<sub>2</sub>: Parsiyel CO<sub>2</sub> basıncı; PO<sub>2</sub>: Parsiyel O<sub>2</sub> basıncı

Kalp atım hızı %25 azalma değerlerinin Grup 2’de ( 520.81 ± 522.65 sn ) Grup 1’e ( 257.20 ± 118.64 ) oranla oldukça uzun, Grup 3 ( 344.01 ± 206.34 ) ve Grup 4’de ( 301.26 ± 131.74 ) yine Grup 1’e göre daha uzun bulunmasına karşın istatistik açıdan anlamlı fark saptanmadı. KAH %50 ve KAH %75 değerlerinin Grup 2 ( 584.02 ± 530.61 ), ( 675.60 ± 522.05 ) ve Grup 3’de ( 438.36 ± 190.09 ), ( 546.73 ± 161.53 ) Grup 1’e ( 328.23 ± 91.76 ), ( 431.11 ± 115.15 ) oranla oldukça uzun bulunduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Grup 4’de ise KAH %25 azalma zamanının Grup 1’den uzun, KAH %50 ve %75 azalma zamanlarının (338.04 ± 135.36) (418.71 ± 142.11), Grup 1’e yakın değerlerde olduğu görüldü ( Şekil 12 ).



Şekil 12 . Grupların kalp atım hızında %25, %50 ve %75 azalma zamanları (ort. ± ss)

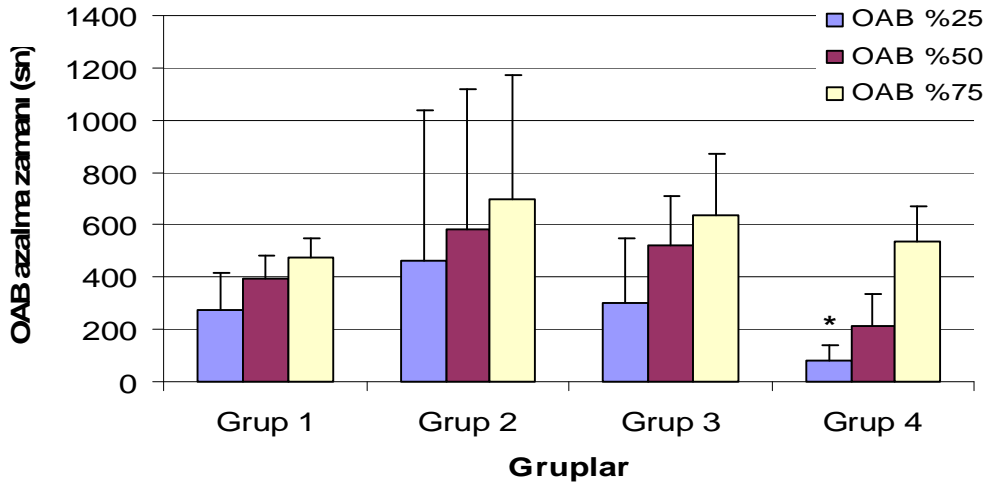
Ortalama arter basıncı %25 azalma zamanı değerleri karşılaştırıldığında, dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi ( $p = 0.039$ ). Grup 2 ( 465.07 ± 575.74 ) ve Grup 3’de ( 304.23 ± 244.89 ) OAB %25 azalma zamanı değerleri Grup 1’e ( 272.62 ± 140.94 ) göre oldukça uzun olmasına karşın istatistik açıdan anlamlı fark bulunmadı. Grup 4’de ( 80.84 ± 56.60\* ) ise OAB %25 azalma zamanlarının Grup 1’e oranla anlamlı derecede kısa olduğu belirlendi ( $p = 0.009$ ) ( Şekil 13 ).

Ortalama arter basıncında %50 azalma zamanları Grup 2 ( 582.94 ± 537.29 ) ve Grup 3’de ( 521.33 ± 190.77 ) Grup 1’e ( 398.52 ± 82.71 ) göre oldukça uzun olmakla birlikte istatistik açıdan anlamsız, Grup 4’de ( 211.92 ± 120.34 ) ise Grup 1’e oranla oldukça kısa ve



yine istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Grup 3 ve Grup 4 karşılaştırıldığında Grup 3'deki OAB %50 azalma zamanının Grup 4'e göre uzun ancak istatistik açıdan anlamlı olmadığı saptandı ( Şekil 13 ).

Ortalama arter basıncı %75 azalma zamanı değerleri karşılaştırıldığında, dört grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. OAB %75 azalma zamanı değerleri Grup2 ( 693.43 ± 478.64 ), Grup3 (637.62 ± 230.71 ) ve Grup 4'de ( 538.71 ± 134.11 ) Grup 1'e ( 475.83 ± 70.47 ) oranla oldukça uzun olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( Şekil 13 ).



**Şekil 13.** Grupların ortalama arter basıncında %25, %50 ve %75 azalma zamanları (ort.±ss)

\* $p = 0.009$ : Grup 1 ile Grup 4 karşılaştırıldığında

Çalışmamızın EKG verileri incelendiğinde erken kardiyotoksisite bulgusu olarak QRS kompleksi genişlemesi, geç bulgu olarak da farklı disritmiler gözlenmiştir. Grup 1'de 3 denekte, Grup 3'de, 1 denekte 3.derece AV blok oluşmuş; deneklerin tümünde ventriküler erken vurular izlenmiş ve VF'un ardından asistoli gelişmiştir.

Gruplar arasında ilk QRS değişikliği zamanı ve asistoli süreleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup 1'de ilk QRS değişikliğinin diğer gruplara göre oldukça kısa sürede olduğu, Grup 2'deki ilk QRS değişikliği zamanının Grup 3'e, Grup 3'deki sürenin ise Grup 4'e oranla daha uzun olduğu ve istatistik açıdan

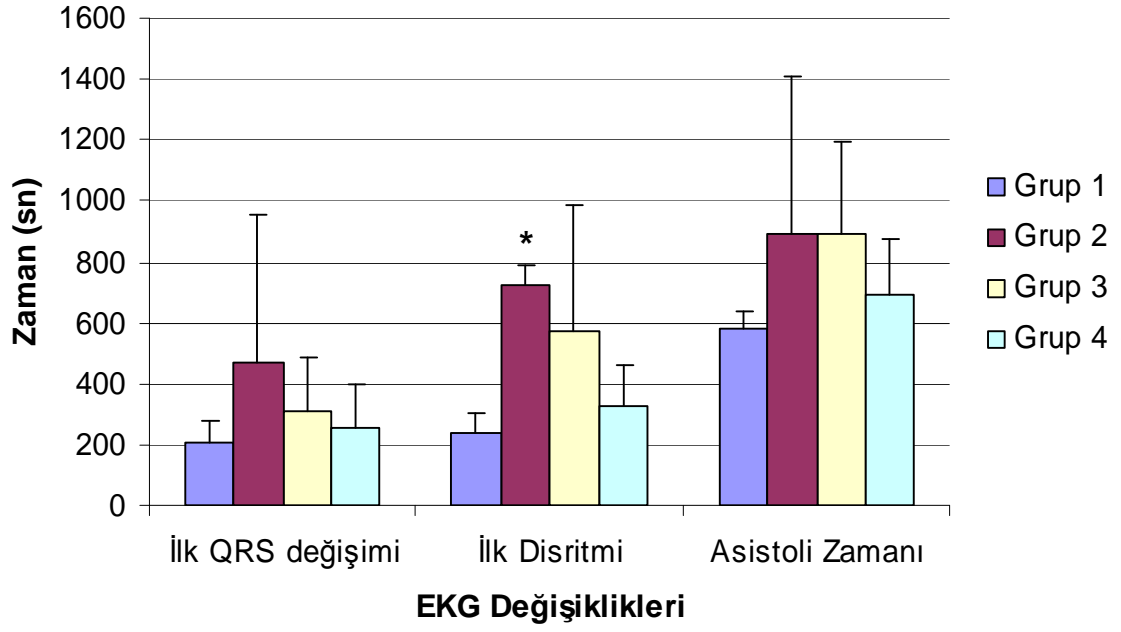
anlamli farklılık bulunmadığı gözlemlendi (Tablo 7), (Şekil 14). Grupların asistoli zamanları karşılaştırıldığında; Grup 2’de asistoli zamanının diğer tüm gruplara göre daha uzun olmakla birlikte, istatistiksel anlamlılık taşımadığı saptandı.

Gruplar arası ilk disritmi zamanları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $p = 0.005$ ) (Tablo 7). Grup 2’deki ilk disritmi zamanının Grup 1’e göre anlamlı derecede daha uzun olduğu saptandı ( $p = 0.002$ ). Grup 3 ve Grup 4’de Grup 1’e göre ilk disritmi zamanı daha uzun olmakla birlikte istatistik açıdan anlamlı bulunmadı (Tablo 7), (Şekil 14).

**Tablo 7.** Grupların ilk QRS değışikliğı zamanı, ilk disritmi zamanı ve asistoli süreleri (ort.  $\pm$  ss)

	<b>GRUP 1</b> (n=6)	<b>GRUP 2</b> (n=6)	<b>GRUP 3</b> (n=6)	<b>GRUP 4</b> (n=6)	<b>P</b>
İlk QRS değışikliğı zamanı (sn)	203.45 $\pm$ 71.90	471.58 $\pm$ 480.27	307.09 $\pm$ 181.87	253.12 $\pm$ 148.50	0.585
İlk disritmi zamanı (sn)	235.76 $\pm$ 67.50	727.95 $\pm$ 59.14*	576.68 $\pm$ 408.74	329.46 $\pm$ 130.68	0.005
Asistoli zamanı (sn)	577.36 $\pm$ 57.05	892.28 $\pm$ 512.81	889.48 $\pm$ 302.41	689.42 $\pm$ 189.46	0.190

\* $p = 0.002$ : Grup 1 ile Grup 2 karşılaştırıldığında



**şekil 14.** Grupların ilk QRS değişikliği zamanı, ilk disritmi zamanı ve asistoli süreleri (ort.  $\pm$  ss)

\* $p=0.002$ : Grup 1 ile Grup 2 karşılaştırıldığında

## **TARTISMA**

Bu çalışmada, PDE5 inhibitörü olan sildenafil sitratın (Viagra) bupivakain kardiyotoksitesi üzerinde bir etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda Wistar cinsi erkek sıçanlarda İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup>. dozda bupivakain infüzyonu ile oluşturulan kardiyotoksite modelinde, farklı dozlarda uygulanan sildenafil sitratın etkilerini araştırdık

Sildenafil sitratın kardiyoprotektif etkilerini araştıran deneysel çalışmalarda, denek olarak sıklıkla tavşan, fare ve sıçanların kullanılmış olması ve DEÜTF Multidisipliner Deneysel Hayvanları laboratuvarımızdan kolaylıkla sağlanabilmesi nedeniyle bu çalışmada denek olarak Wistar cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır.<sup>14-16,90</sup>

Çalışma süresince DEÜTF Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nın önerdiği bakım ve uygulama rehberine uyulmuş, üç gün süreyle 12 saat aydınlık-12 saat karanlıkta barındırılan deneklerin ışık ve sıcaklığı standardize edilmiş ortama adaptasyonları sağlanmıştır.<sup>113</sup>

Sıçanlarda yapılan bupivakain toksisitesi ile ilişkili çalışmalarda farklı anestezi yöntemleri uygulanmaktadır.<sup>27,29,66,68,114,115</sup> Castro ve ark.<sup>116</sup> atorvastatinin sildenafil ile indüklenen vazodilatasyonu artırdığını gösterdikleri çalışmalarında, sıçanlara İP 1gr.kg<sup>-1</sup> üretan vererek anestezi uygulamışlar, Das S. ve ark.<sup>16</sup> ise sildenafilin kardiyoprotektif etkilerini araştırdıkları çalışmalarında sıçanlarda İV 60 mg.kg<sup>-1</sup> sodyum pentobarbital ile anestezi uygulamasını gerçekleştirmişlerdir.

Intraperitoneal ve İV üretan uygulaması sonrasında sıçanlarda spontan solunumun korunabildiği ve hemodinamik değişikliklerin minimal düzeyde olduğu farklı çalışmacılar tarafından bildirilmektedir.<sup>116,117</sup> Çalışmamızda Castro ve ark.<sup>116</sup>'nın sıçanlara uyguladıkları gibi İP 1gr.kg<sup>-1</sup> üretan ile anestezi uygulanmış, spontan solunumları korunan deneklerde O<sub>2</sub> insüflasyonu altında kaudal ven ve ana karotid arter kanülasyonları gerçekleştirilmiştir. Yapılan bazal arteriyel kan gazı analizi sonuçlarımızın gruplar arasında farklılık göstermemiş olması ve patolojik değerler gözlenmemesi diğer çalışmacıların standartları ile uyumlu bir çalışma koşulu sağladığımızı düşündürmektedir.<sup>116,117</sup> Bazal

SAB, DAB, OAB, KAH ve QRS genişliği değerlerinde de gruplar arasında farklılık gözlenmemesi de bu kanımızı desteklemektedir.

Deneklere; venöz / arteriyel kanülasyonlar sırasındaki kan kaybı ve arteriyel kan gazı analizi nedeniyle oluşan kayıpların karşılanması amacıyla, Güleç ve ark.<sup>114</sup>,nın önerileri doğrultusunda İV bolus 0,5 mL<sup>-1</sup> %0,9 NaCl injeksiyonu ve 2 mL/sa<sup>-1</sup> İV %0,9 NaCl infüzyonu (*B.BRAUN secura*) uygulanmıştır.

Xin ve ark.<sup>118</sup> sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada EKG kaydı amacıyla, Medlab sistemini kullanmışlar; Rodriguez Ferreira Rivero ve ark.<sup>119</sup> ise insanlarda kullanılmak üzere geliştirilmiş olan EKG cihazını sıçanlara adapte etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise invaziv arteriyel kan basıncı ve sürekli EKG monitorizasyonu amacıyla çeşitli çalışmalarda kullanılmış olan Biopac sistemi (Biopac Systems Inc, Santa Barbara, CA, ABD) ile elde edilen veriler, *BSL PRO software* programı aracılığı ile analiz edilmiştir.<sup>114,120</sup>

Bupivakain KVS ve SSS'de sistemik toksik etkiler oluşturabilen, yanlılıkla İV yüksek doz uygulanması durumunda resüsitasyona dirençli ciddi kardiyovasküler kollapsa ve ventriküler aritmilere neden olan amid yapıda bir lokal anesteziiktir.<sup>2,4,5,40,41</sup> Bupivakain ilişkili kardiyotoksisitenin araştırıldığı çeşitli deneysel çalışmalar bulunmaktadır.<sup>115,121-123</sup>

Gulec ve ark.,<sup>114</sup> sıçanlarda bupivakain kardiyotoksisitesi üzerine klonidinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Dony ve ark.<sup>29</sup>,nın uyguladıkları gibi, 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> İV bupivakain infüzyonunu; Shi B.<sup>115</sup> ve Heavner JE.<sup>121</sup> ise bupivakainin toksik etkileri ile ilgili çalışmalarında 2 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> İV infüzyon dozunu kullanmışlardır. Biz de bu çalışmada kardiyotoksisite oluşturabilmek için sıklıkla kullanılan 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> İV bupivakain infüzyon dozunu uyguladık.

Sildenafil sitratın kardiyoprotektif etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda tavşanlarda 0.7 mg.kg<sup>-1</sup> İV ve 1.45 mg.kg<sup>-1</sup> İV; farelerde 0.7 mg.kg<sup>-1</sup> İP; sıçanlarda 0.001 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.01 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.05 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> İV ve 0.5 mg.kg<sup>-1</sup> İV sildenafil dozları kullanılmıştır.<sup>15,16,90,91</sup> Colle ve ark.<sup>124</sup>,nın sıçanlarda sildenafil sitratın sistemik ve hemodinamik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; 0.01 mg.kg<sup>-1</sup> İV, 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> İV, 1

mg.kg<sup>-1</sup> İV ve 10 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus dozlar kullanılmıştır. Castro ve ark.<sup>116</sup> ise sıçanlarda sildenafilin 0.1 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.3 mg.kg<sup>-1</sup>, 1 mg.kg<sup>-1</sup> ve 3 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus dozlarını uygulayarak sildenafil ilişkili vasküler yanıtta atorvastatinin etkilerini incelemişlerdir. Biz de çalışmamızda bupivakain kardiyotoksitesisi üzerine sildenafilin kardiyoprotektif etkilerini gözleyebilmek amacıyla Colle ve ark.'nın<sup>124</sup> çalışmalarında olduğu gibi 0.01 mg.kg<sup>-1</sup> İV, 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> İV, 1 mg.kg<sup>-1</sup> İV bolus sildenafil dozları uygulayarak sonuçları değerlendirdik.

Sildenafil sitrat İV formunun ticari preparatı olmaması nedeniyle, çalışmada kullanıldığımız etken madde *Pfizer* İlaçları Ltd.Şti. İstanbul-Türkiye tarafından sağlanmış ve 100 µL<sup>-1</sup>lik total volümde, 0.01 mg.kg<sup>-1</sup>, 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> ve 1 mg.kg<sup>-1</sup> sildenafil sitrat olacak şekilde her bir denek için ayrı ayrı salin ile sulandırılarak hazırlanmıştır. Castro ve ark.<sup>116</sup> da çalışmalarında kullandıkları sildenafil solüsyonunu, 100 µL'de üç farklı konsantrasyonda olacak şekilde %0,9 NaCl ile sulandırarak uygulamışlardır.

Kardiyotoksitesite, bupivakainin hem direkt hem indirekt kardiyak etkilerinin bir sonucudur. Direkt etki ile ventriküler taşikardi, bradikardi, AV blok, kardiyak debi azalması ve hipotansiyon gibi klinik kardiyotoksitesite bulguları ortaya çıkabilir. İndirekt etki ile ise sempatik kardiyak innervasyon blokajı ve SSS ile ilgili toksik bulgular gelişebilir.<sup>18,50,51</sup>

Sıçanlarda bupivakainin ve ropivakainin toksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> İV lokal anestezi infüzyonu ile önce QRS kompleksi genişlemiş, ardından KAH düşmüş, daha sonra OAB azalmış ve asistoli gelişmiştir. Bolus injeksiyon yerine düşük doz infüzyon uygulanması toksik semptomlar belirmeden önce kümülatif olarak yüksek dozda lokal anestezi uygulanmasına izin vermektedir. Bu çalışmada ropivakain grubunda sıçanlarda konvülsiyon kardiyovasküler arrest öncesinde izlenmiş, bupivakain grubunda ise nörotoksitesite semptomları oluşmaksızın kardiyak arrest gelişmiştir.<sup>29</sup>

Çalışmamızda 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> İV bupivakain infüzyonunun ardından kontrol grubumuz olan bupivakain grubunda (Grup 1); KAH ve OAB'larının %25, %50 ve %75 azalma zamanları değerlendirilmiştir. Kalp atım hızları değerlendirildiğinde; KAH %25

azalma zamanı  $257.20 \pm 118.64$  sn., KAH %50 azalma zamanı  $328.23 \pm 91.76$  sn. ve KAH %75 azalma zamanı  $431.11 \pm 115.15$  sn olarak bulunmuştur. Ortalama arter basınçları değerlendirildiğinde ise; OAB %25 azalma zamanı  $272.62 \pm 140.94$  sn., OAB %50 azalma zamanı  $398.52 \pm 82.71$  sn. ve OAB %75 azalma zamanı  $475.83 \pm 70.47$  sn olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz veriler önce KAH'nın düştüğünü, kısa bir süre sonra da OAB'nın azaldığını göstermektedir. Bu bulgular Güleç ve ark'nın sıçanlarda oluşturulan bupivakain ve ropivakain kardiyotoksitesine klonidinin etkilerini araştırdıkları çalışma verilerinin yanı sıra diğer literatür bulguları ile uyumludur.<sup>27,29,114</sup>

Çalışmamızın kontrol grubunda (Grup 1) bupivakain infüzyonuna başlanmasının ardından ilk QRS değişikliğinin  $203.45 \pm 71.90$  sn'de ve ilk disritminin  $235.77 \pm 67.50$  sn'de olduğu,  $577.36 \pm 57.05$  sn'de ise asistoli geliştiği gözlenmiştir.

Yüksek doz ( $4\text{mg.kg}^{-1}$ . İV) bupivakain verilen köpeklerde klonidin ve dobutaminin elektrofizyolojik ve hemodinamik değişiklikler üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bupivakain verilen grupta, salin verilen gruba göre anlamlı bradikardi, PR aralığında uzama, QRS kompleksinde genişleme gözlenmiştir.<sup>61</sup>

Shi ve ark.<sup>115</sup> sıçanlarda bupivakainin doku dağılımı ve toksisitesi üzerine NO modülasyonunun etkilerini araştırdıkları çalışmalarında  $2 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$  bupivakain infüzyonu uygulamışlar, ilk QRS değişikliği zamanını ortalama 300 sn olarak bulmuşlardır.

Domuzlarda bupivakain ilişkili KVS ve SSS toksisitesi üzerine midazolam ve diyazepam premedikasyonunun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada,  $2\text{mg.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$  İV bupivakain infüzyonu ile oluşan disritmilerin, supraventriküler ritimden ventriküler kollaps veya asistoliye kadar ilerlediği gösterilmiştir.<sup>55</sup>

Gulec ve ark.,<sup>114</sup> sıçanlarda bupivakain ve ropivakain kardiyotoksitesite üzerine klonidinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında  $3\text{mg.kg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ . İV bupivakain infüzyonu dozunu kullanarak asistoli süresini  $546 \pm 82$  sn olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da

aynı dozda bupivakain infüzyonu uygulanmış ve asistoli zamanı benzer bulunmuştur ( $577.36 \pm 57.05$ ).

Profilaktik olarak uygulanan klonidin, bupivakaine bağlı gelişen sistemik toksisitede, disritmi eşiğini yükseltmekte; ancak, hipotansiyondan korumamaktadır.<sup>60</sup> De La Coussaye ve ark.<sup>61</sup>'nin köpeklerde yaptıkları bir çalışmada dobutamin ile birlikte klonidin uygulamasının olumlu sonuçlar verdiği; Kinney ve ark.<sup>62</sup>'nin sıçanlara uyguladıkları propranolol ön tedavisinin de bupivakaine bağlı fatal kardiyotoksisiteyi azalttığı ifade edilmektedir.

Yapılan son dönem deneysel çalışmalarla sildenafilin, *preconditioning*-benzeri güçlü bir kardiyoprotektif etki oluşturduğu gösterilmiştir.<sup>14-16,90,91</sup> Sildenafilin bu etkisi mitoK<sub>ATP</sub> kanallarının açılması sonucu infarkt alanının küçülmesi, sistemik venlerin ve epikardiyal koroner arterlerin dilatasyonu ile gerçekleşebilmektedir.<sup>14</sup> Sildenafilin mitoK<sub>ATP</sub> kanallarının yanı sıra mitoK<sub>Ca</sub> aracılığı ile de kardiyoprotektif etki gösterdiği, ancak mitoK<sub>Ca</sub> kanallarını nitrik oksit bağımlı mekanizma ile aktive edip etmediğinin tam olarak bilinmediği ifade edilmiştir.<sup>97</sup>

Düşük doz sildenafil uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarına karşı cGMP bağımlı mekanizma ile kardiyoprotektif etki gösterdiğini belirten farklı çalışmacılar bulunmaktadır.<sup>16,125</sup> Sildenafil, nitrik oksit sentezini ve kompleks hücre sinyal iletim kaskadını tetikleyerek miyofibril hasarlarına, iskemi reperfüzyon sonucunda oluşan nekroz ve apoptotik hücre ölümüne karşı miyokardiyal koruma sağlamaktadır.<sup>14,15,76,78,95</sup>

Çalışmamızda kontrol grubu (Grup 1) ve 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> (Grup 2), 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> (Grup 3), 1 mg.kg<sup>-1</sup> (Grup 4) İV bolus sildenafil sitrat + 3 mg.kg<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup> bupivakain infüzyonu uyguladığımız gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında KAH %25, %50 ve %75 azalma zamanlarının istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı.

Grup 2 ve Grup 3'de KAH %25, %50, %75 azalma zamanlarının istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre daha uzun süreleri kapsaması, 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> ve 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> sildenafil sitrat dozlarında kardiyoprotektif etkinin oluşabileceği yönündeki



bulgular olarak değerlendirildi. Das ve ark.<sup>16</sup>'nın sıçanlarda İV 0,001 mg.kg<sup>-1</sup>'dan 0,05 mg.kg<sup>-1</sup>'a kadar olan sildenafil sitrat dozlarının kardiyoprotektif olduğunu ifade etmeleri bu değerlendirmemizi desteklemektedir.

Grup 4'de KAH %25, %50, %75 azalma zamanlarının Grup 2 ve Grup 3'e oranla daha kısa olmasının, yüksek sildenafil sitrat dozlarında VF insidansının artması ile açıklanabileceği kanısına varılmıştır. Bu sonuç Das ve ark.<sup>16</sup>'nın sıçanlarda yüksek sildenafil dozlarında VF eğiliminin arttığı yönündeki sonuçları ile uyumludur.

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada, Grup 1'deki OAB %25 azalma zamanının (272.62 ± 140.94 sn) istatistiksel anlamlılık taşımamakla birlikte Grup 2 (465.07 ± 575.74 sn) ve Grup 3'e (304.23 ± 244.89 sn) oranla daha kısa olduğu, Grup 4'e (80.84 ± 56.60 sn) göre ise istatistik açıdan anlamlı derecede uzun olduğu belirlendi. Bu durumun Grup 2 ve 3'de uygulanan sildenafil dozlarının kardiyoprotektif etkileri ile açıklanabileceği kanısına varıldı. Grup 4'de ise OAB %25 ve OAB %50 azalma zamanlarının Grup 1'e oranla daha kısa bulunması yüksek doz sildenafil sitratın akut vazodilatatör etkisi nedeni ile hipotansif etkinin daha kısa sürede ortaya çıktığı şeklinde değerlendirildi.

Grup 2 ve 3'de OAB %50 ve OAB %75 azalma zamanlarının istatistik anlamlılık taşımamakla birlikte Grup 1'e oranla daha uzun bulunması sıçanlarda bupivakain kardiyotoksitesi üzerine İV 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> ve 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> sildenafil dozlarının kardiyoprotektif etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Grup 4'deki OAB %75 azalma zamanı ve KAH %25, %50 azalma zamanlarının Grup 1'e oranla daha uzun bulunması İV 1mg.kg sildenafil sitrat dozlarının da hipotansif ve aritmojenik etkilerine rağmen bupivakainin kardiyotoksik etkilerini sınırlandırabileceği yönünde düşünmemize yol açmıştır.

Ockaili ve ark.<sup>14</sup>'nın tavşanlarda 0,7 mg.kg<sup>-1</sup> İV sildenafil sitratın sistolik, diyastolik ve ortalama arter basıncında hızlı bir düşüşe neden olduğunu bildirdikleri çalışma da bizim sonuçlarımızı desteklemektedir.

Lokal anestezipler uygulanan doza bağlı olarak EKG'de PR aralığının uzamasına ve QRS kompleksinde genişlemeye, AV blok, ventriküler taşikardi, ventriküler fibrilasyon gibi fatal aritmilere neden olabilmektedir.<sup>3,5,6,34,35</sup> Lokal anesteziplerin çok yüksek konsantrasyonları sinüs nodunda spontan *pacemaker* aktivitesini baskılamakta, sinüs bradikardisine ve sinüs arrestine neden olmaktadır.<sup>5</sup>

Voltağ bağımlı potasyum kanallarının bupivakain tarafından bloke edilmesi kardiyak aksiyon potansiyeli süresini uzatarak kardiyotoksik etkiye katkıda bulunabilmektedir.<sup>7,44</sup> Bupivakain, ayrıca L-tipi kalsiyum kanallarını da bloke etmekte ve böylelikle AV nodta kardiyak kontraktileteyi ve elektriksel iletimi azaltmaktadır.<sup>45</sup>

Bu deneysel *invivo* çalışmada bupivakain toksisitesinin öncelikli elektrofizyolojik bulgusu olan ilk QRS kompleksi genişleme zamanı; kontrol grubunda (Grup 1)  $203.45 \pm 71.90$  sn, Grup 2'de  $471.58 \pm 480.27$  sn, Grup 3'de  $307.09 \pm 181.87$  sn ve Grup 4'de  $253.12 \pm 148.50$  sn olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, veriler kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda ilk QRS kompleksi genişleme zamanının uzadığını göstermektedir. Bu bulgular sildenafil uygulamasının QRS kompleksi genişlemesini geciktirdiği yönünde yorumlanmıştır.

Çalışmamızda ilk disritmi zamanları; kontrol grubunda (Grup 1'de)  $235.76 \pm 67.496$  sn., Grup 2'de  $727.95 \pm 59.14$  sn, Grup 3'de  $576.68 \pm 408.74$  sn ve Grup 4'de  $329.46 \pm 130.68$  sn olarak bulunmuş, Grup 2'deki ilk disritmi süresinin Grup 1'e göre oldukça anlamlı derecede uzun olduğu saptanmıştır ( $p = 0,005$ ). Grup 3 ve Grup 4'deki ilk disritmi zamanlarının Grup 1'e göre uzun olmasına karşın istatistik olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu durum İV  $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$  bolus sildenafil dozunun sıçanlarda bupivakain toksisite modeli üzerinde kardiyoprotektif etki gösterdiği,  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$  ve  $1 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozların da etkili olabileceği kanısına varmamıza yol açmıştır.

Das ve ark.<sup>16</sup> izole sıçan kalbinde sildenafil sitratın farklı dozlarının iskemik miyokardiyuma etkilerini inceledikleri *invitro* bir çalışmada İV  $0.05 \text{ mg.kg}^{-1}$  sildenafil sitratın VF insidansını anlamlı oranda azalttığını, İV  $0.01 \text{ mg.kg}^{-1}$  dozda da VF

insidansında azalma olduğunu belirtmişler, yüksek dozlarda ise (0.3 mg.kg<sup>-1</sup> ve 0.5 mg.kg<sup>-1</sup>) ciddi ventriküler aritmiler gözleendiğini ifade etmişlerdir. Bu bulgular, *invivo* olarak yaptığımız çalışmamızın Grup 2 ve Grup 3'deki sonuçları ile uyumludur. İV 1 mg.kg<sup>-1</sup> bolus sildenafil uyguladığımız Grup 4'de kardiyak arrestin diğer gruplarda olduğu gibi VF'un ardından gelişmiş olması Das ve ark.<sup>16</sup> ile benzer sonuçlara ulaştığımızı göstermektedir.

Bu araştırmada asistoli zamanlarının; Grup 1'de 577.36 ± 57.05 sn, Grup 2'de 892.28 ± 512.81 sn, Grup 3'de 889.48 ± 302.41sn ve Grup 4'de 689.42 ± 189.46 sn olduğu saptanmış, sildenafil uygulanan gruplarda asistoli zamanları, istatistik anlamlılık taşımamakla birlikte kontrol grubuna göre uzun bulunmuştur. Asistoli zamanının kontrol grubuna göre tüm gruplarda uzun bulunması, uygulanan sildenafil dozlarının bupivakain kardiyotoksisite modelinde kardiyoprotektif etkilerinin olabileceği yönünde bir sonuca varmamıza neden olmuştur.

Çalışmamızın EKG verileri incelendiğinde erken kardiyotoksisite bulgusu olarak QRS kompleksi genişlemesi izlenmiş, geç bulgu olarak da farklı disritmiler gözlenmiştir. Grup 1'de 3 denekte, Grup 3'de 1 denekte AV tam blok, tüm gruplarda ventriküler erken vurular gelişmiş, deneklerin tümü asistoli öncesinde VF'ye girmiştir. Bupivakain ilişkili kardiyotoksisiteye bağlı ölümlerin direkt miyokardiyal depresyondan kaynaklandığı yönündeki görüşlerin yanı sıra, ventriküler disritmiler nedeniyle oluştuğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.<sup>33,126-128</sup> Bu çalışmanın kontrol grubunda (Grup 1) da KAH ve OAB, disritmi gelişmesinin ardından azalmaya başlamış, deneklerde gelişen kardiyak arrestin miyokardiyal depresyondan çok, bupivakain kardiyotoksisitesine bağlı disritmi nedeniyle oluştuğu düşünülmüştür. Sildenafil uygulanan gruplarda ilk olarak OAB'nın daha sonra da KAH'nın azalmış olması, NO yoluyla oluşan vazodilatasyona; disritminin, KAH azalmasından sonra ortaya çıkması ve disritminin ortaya çıkma sürelerinin kontrol grubuna göre uzun bulunması ise, *preconditioning* benzeri kardiyoprotektif etkiye bağlanmıştır.<sup>16</sup>

## **SONUC VE ÖNERİLER**

Wistar cinsi erkek sıçanlarda İV 3 mg.kg<sup>-1</sup>.dk<sup>-1</sup> dozda bupivakain infüzyonu ile oluşturulan kardiyotoksisite modelinde, farklı dozlarda İV uygulanan sildenafil sitratın (Viagra), bupivakain kardiyotoksitesi üzerindeki etkilerini araştırdığımız bu çalışmada; İV 0.01 mg.kg. sildenafil dozunun disritmi oranını azalttığı ve disritmi oluşum zamanını uzattığı saptanmış, kardiyoprotektif olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada 0.01 mg.kg<sup>-1</sup> ve İV 0.1 mg.kg<sup>-1</sup> dozlarda sildenafil uygulanan gruplarda KAH ve OAB %25, %50, %75 azalma zamanları, sadece bupivakain uygulanan kontrol grubuna göre uzun olmakla birlikte istatistik açıdan anlamlı bulunmamıştır. İV 1 mg.kg<sup>-1</sup> dozda sildenafil uygulanan Grup 4'de OAB %25 azalma zamanının kontrol grubuna göre anlamlı derecede kısa bulunması ise yüksek doz sildenafil sitratın akut vazodilatatör etkisi ile ilişkilendirilmiştir.

Sildenafil uygulanan gruplarda ilk QRS değişikliği zamanları ve asistoli sürelerinin kontrol grubuna göre uzun olduğu gözlenmiş; ancak, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

DEÜTF Halk Sağlığı Anabilim Dalı istatistik uzmanlarının ve Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı sorumlu öğretim üyesinin denek sayısını yeterli bulmaları üzerine, başlangıçta planlanan 32 sıçan yerine toplam 24 denek ile araştırmanın tamamlanmış olması, en önemli kısıtlılığımızdır. Bu çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık taşıyan daha kesin sonuçlara dönüşebilmesi için daha fazla sayıda denek üzerinde planlanan ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **KAYNAKLAR**

1. Cox B, Durieux ME, Marcus MAE. Toxicity of local anaesthetics. *Best prac anesth* 2003;17: 111-136.
2. Liu SS, Hodgson PS. Local Anesthetics. In: *Clinical Anesthesia*. Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK (eds), 4th ed., Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 449-469.
3. Groban L. Central nervous system and cardiac effects from long-acting amide local anesthetic toxicity in the intact animal model. *Reg Anesth Pain Med*. 2003;28: 3-11.
4. Albright GA. Cardiac arrest following regional anesthesia with etidocaine or bupivacaine. *Anesthesiology*. 1979;51: 285-287.
5. Strichartz GR, Bedre CB. Local Anesthetics. In: *Miller's Anesthesia*. Miller RD (ed), 6th ed., Philadelphia:Elsevier Churchill Livingstone, 2005; 573-603.
6. Clarkson CW, Hondeghem LM. Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology*. 1985;62: 396-405.
7. Castle NA. Bupivacaine inhibits the transient outward K current but not the inward rectifier in rat ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990;255: 1038–1046.
8. Fryer RM, Hsu AK, Eells JT, Nagase H ve ark. Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial KATP channels. *Circ Res*. 1999;84: 846–851.
9. Wang Y, Kudo M, Xu M, Ayub A ve ark. Mitochondrial KATP channel as an end effector of cardioprotection during late preconditioning: triggering role of nitric oxide. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33: 2037–2046.

10. Boban M, Stowe DF, Gross GJ, Pieper GM ve ark. Potassium channel openers attenuate atrioventricular block by bupivacaine in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1993; 76: 1259–1265.
11. Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC ve ark. Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med.* 1998;20: 1397-1404.
12. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ ve ark. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2005;353: 2148-2157.
13. Corbin JD. Mechanisms of action of PDE5 inhibition in erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 2004;16 :S4-S7.
14. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, Kukreja RC: Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits. *Am J Physiol.* 2002;283: 1263-1269.
15. Salloum F, Yin C, Xi L, Kukreja RC. Sildenafil induces delayed preconditioning through inducible nitric oxide synthase dependent pathway in mouse heart. *Circ Res.* 2003;92: 595–597.
16. Das S, Maulik N, Das DK., Kadowitz PJ ve ark. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. *Drugs Exp Clin Res.* 2002;28: 213–219.
17. Patrick W. Fisher, Fadi Salloum, Anindita Das, Haroon Hyder ve ark. Phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity. *Circulation.* 2005;111: 1601–1610.
18. Zeynep Esener: Lokal anestezikler; *Klinik Anestezi*: 3. baskı 2004; 503-523.

19. Heavner JE: Local anesthetics. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2007;4: 336-342.
20. Kindler CH, Yost CS. Two-pore domain potassium channels: new sites of local anesthetic action and toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2005;30: 260–274.
21. Xu F, Garavito-Aguilar Z, Recio-Pinto E, Zhang J ve ark. Local anesthetics modulate neuronal calcium signaling through multiple sites of action. *Anesthesiology* 2003;98: 1139–1146.
22. Mendoza-Baumgart MI, Pravetoni M, Sparber SB. Inhibition of nitric oxide synthase enhances cocaine's developmental toxicity: vascular and CNS effects. *Neuropsychopharmacology.* 2007;32: 940-945.
23. Mulroy MF. Systemic toxicity and cardiotoxicity from local anesthetics: incidence and preventive measures. *Reg Anesth Pain Med* 2002;27: 556-61.
24. Radwan IA, Saito S, Goto F. The neurotoxicity of local anesthetics on growing neurons: a comparative study of lidocaine, bupivacaine, mepivacaine, and ropivacaine. *Anesth Analg.* 2002;2: 319-324.
25. Marsch SC, Schaefer HG, Castelli I. Unusual psychological manifestation of systemic local anesthetic toxicity. *Anesthesiology.* 1998;88: 531-533.
26. Tanaka K, Yamasaki M. Blocking of cortical inhibitory synapses by intravenous lidocaine. *Nature* 1966;209: 207-208.
27. Ohmura S, Kawada M, Ohta T, Yamamoto K ve ark. Systemic toxicity and resuscitation in bupivacaine-, levobupivacaine-, or ropivacaine-infused rats. *Anesth Analg.* 2001;93: 743-748.

28. Santos AC, DeArmas PI. Systemic toxicity of levobupivacaine, bupivacaine, and ropivacaine during continuous intravenous infusion to nonpregnant and pregnant ewes. *Anesthesiology*. 2001;95: 1256-1264.
29. Dony P, Dewinde V, Vanderick B, Cuignet O ve ark. The comparative toxicity of ropivacaine and bupivacaine at equipotent doses in rats. *Anesth Analg*. 2000;91: 1489-1492.
30. Groban L, Deal DD, Vernon JC, James RL ve ark. Cardiac resuscitation after incremental overdosage with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine in anesthetized dogs. *Anesth Analg*. 2001;92: 37-43.
31. Chang DH, Ladd LA, Copeland S, Iglesias MA ve ark. Direct cardiac effects of intracoronary bupivacaine, levobupivacaine and ropivacaine in the sheep. *Br J Pharmacol* 2001;132: 649-658.
32. Weinberg GL. Current concepts in resuscitation of patients with local anesthetic cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2002;27: 568-575.
33. Huang YF, Pryor ME, Mather LE, Veering BT. Cardiovascular and central nervous system effects of intravenous levobupivacaine and bupivacaine in sheep. *Anesth Analg*. 1998;86: 797-804.
34. Reiz S, Nath S. Cardiotoxicity of local anaesthetic agents. *Br J Anaesth*. 1986;58: 736-746.
35. Hogan Q. Local anesthetic toxicity: an update. *Reg Anesth* 1996;58: 736-746.
36. Heavner JE. Cardiac toxicity of local anesthetics in the intact isolated heart model: A review. *Reg Anesth Pain Med* 2002;27: 545-555.



37. Mather LE, Chang DH. Cardiotoxicity with modern local anesthetics. Is there a safer choice? *Drugs* 2001;61: 333-342.
38. Löfström JB. 1991 Labat Lecture. The effect of local anesthetics on the peripheral vasculature. *Reg Anesth.* 1992;17: 1-11.
39. Liu P, Feldman HS, Covino BM, Giasi R ve ark. Acute cardiovascular toxicity of intravenous amide local anesthetics in anesthetized ventilated dogs. *Anesth Analg.* 1982;61: 317-322.
40. Morgan G.E., Maged S.M., Murray JM. Local anesthetics. In: *Clinical Anesthesiology.* Morgan G.E., Maged S.M., Murray JM. (eds), 3rd ed., USA: Mc Graw-Hill Company, 2002; 220 - 232.
41. Marx GF. Cardiotoxicity of local anesthetics--the plot thickens. *Anesthesiology.* 1984;60: 3-5.
42. Casati A, Putzu M. Bupivacaine, levobupivacaine and ropivacaine: are they clinically different? *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2005;19: 247-268.
43. McClure JH. Ropivacaine. *Br J Anaesth* 1996;76: 300-307.
44. Valenzuela C, Delpon E, Tamkun MM, Tamargo J ve ark. Stereoselective block of a human cardiac potassium channel (Kv1.5) by bupivacaine enantiomers. *Biophys J* 1995;69: 418-427.
45. Rossner KL, Freese KJ. Bupivacaine inhibition of L-type calcium current in ventricular cardiomyocytes of hamster. *Anesthesiology.* 1997;87: 926-934.
46. Denson DD, Behbehani MM, Gregg RV. Effects of an intravenously administered arrhythmogenic dose of bupivacaine at the nucleus tractus solitarius in the conscious rat. *Reg Anesth.* 1990;15: 76-80.

47. Bernardis CM, Artu AA. Hexamethonium and midazolam terminate dysrhythmias and hypertension caused by intracerebroventricular bupivacaine in rabbits. *Anesthesiology*. 1991 74: 89-96.
48. Szocik JF, Gardner CA, Webb RC. Inhibitory effects of bupivacaine and lidocaine on adrenergic neuroeffector junctions in rat tail artery. *Anesthesiology*. 1993;78: 911-917.
49. Chang KS, Yang M, Andresen MC. Clinically relevant concentrations of bupivacaine inhibit rat aortic baroreceptors. *Anesth Analg*. 1994;78: 501-506.
50. Tucker GT, Mather LE. Properties, absorption and disposition of local anesthetic agents: Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain. 3rd. ed. Cousins MJ, Bridenbaugh PO (eds) Lippincott-Raven, Philadelphia: 1998; 55-95.
51. Collins VJ. Lokal anesthetics: Principles of Anesthesiology. 3rd ed. Collins VJ (ed) Lea &Febiger, Philadelphia: 1993; 1232-1281.
52. Daut J, Maier-Rudolph W, von Beckerath N, Mehrke G ve ark. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Science* 1990;247: 1341–1344.
53. Wang X, Wu J, Li L, Chen F ve ark. Hypercapnic acidosis activates KATP channels in vascular smooth muscles. *Circ Res* 2003;92: 1225–1232.
54. Yokoyama M, Benson KT, Arakawa K, Goto H. Effects of flumazenil on intravenous lidocaine-induced convulsions and anticonvulsant property of diazepam in rats. *Anesth Analg*. 1992;75: 87-90.

55. Bernards CM, Carpenter RL, Rupp SM, Brown D ve ark. Effect of midazolam and diazepam premedication on central nervous system and cardiovascular toxicity of bupivacaine in pigs. *Anesthesiology* 1989;70: 318-323.
56. Laurito CE, Chen WX. Biological dyes may improve the safety of local anesthetics. *J Clin Anesth* 1998;10: 176-177.
57. Feldman HS, Arthur GR, Pitkanen M, Hurley R ve ark. Treatment of acute systemic toxicity after the rapid intravenous injection of ropivacaine and bupivacaine in the conscious dog. *Anesth Analg.* 1991;73: 373-384.
58. Kulier AH, Woehlck HJ, Hogan QH, Hoffmann RG ve ark. Epinephrine dysrhythmogenicity is not enhanced by subtoxic bupivacaine in dogs. *Anesth Analg.* 1996;83: 62-67.
59. Lacombe P, Blaise G, Hollmann C, Tanguay M ve ark. Isoproterenol corrects the effects of bupivacaine on the electrophysiologic properties of the isolated rabbit heart. *Anesth Analg.* 1991;72: 70-74.
60. De Kock M, Le Polain B, Henin D, Vandewalle F ve ark. Clonidine pretreatment reduces the systemic toxicity of intravenous bupivacaine in rats. *Anesthesiology.* 1993;79: 282-289.
61. De La Coussaye JE, Bassoul B, Brugada J, Albat B Peray PA ve ark. Reversal of electrophysiologic and hemodynamic effects induced by high dose of bupivacaine by the combination of clonidine and dobutamine in anesthetized dogs. *Anesth Analg.* 1992;74: 703-711.
62. Kinney WW, Kambam JR, Wright W. Propranolol pretreatment reduces cardiorespiratory toxicity due to plain, but not epinephrine-containing, intravenous bupivacaine in rats. *Can J Anaesth.* 1991;38: 533-536.

63. Kim JT, Jung CW, Lee KH. The effect of insulin on the resuscitation of bupivacaine-induced severe cardiovascular toxicity in dogs. *Anesth Analg*. 2004;99: 728-733.
64. Cho HS, Lee JJ, Chung IS, Shin BS ve ark. Insulin reverses bupivacaine-induced cardiac depression in dogs. *Anesth Analg* 2000;91: 1096-1102.
65. Stehr SN, Ziegeler JC, Pexa A, Oertel R ve ark. The effects of lipid infusion on myocardial function and bioenergetics in l-bupivacaine toxicity in the isolated rat heart. *Anesth Analg*. 2007;104: 186-192.
66. Weinberg GL, VadeBoncouerT, Ramaraju GA, Garcia-Amaro MF ve ark. Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology* 1998;88: 1071-1075.
67. Soltesz EG, van Pelt F, Byrne JG. Emergent cardiopulmonary bypass for bupivacaine cardiotoxicity. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2003;17: 357-358.
68. Heavner JE, Pitkänen MT, Shi B, Rosenberg PH. Resuscitation from bupivacaine-induced asystole in rats: comparison of different cardioactive drugs. *Anesth Analg*. 1995;80: 1134-1139.
69. Neustein S, Sampson I, Dimich I, Shiang H ve ark. Milrinone is superior to epinephrine as treatment of myocardial depression due to ropivacaine in pigs. *Can J Anaesth*. 2000;47: 1114-1118.
70. Hirabayashi Y, Igarashi T, Saitoh K, Fukuda H ve ark. Comparison of the effects of amrinone, milrinone and olprinone in reversing bupivacaine-induced cardiovascular depression. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2000;44: 1128-1133.
71. Rosenberg PH, Veering BT, Urmev WF. Maximum recommended doses of local anesthetics: a multifactorial concept. *Reg Anesth Pain Med*. 2004;29: 564-575.

72. Heavner JE. Let's abandon blanket maximum recommended doses of local anesthetics. *Reg Anesth Pain Med* 2004;29: 524.
73. Corbin JD, Francis SH, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology*. 2002;60: 4-11.
74. Porst H, Rosen R, Padma-Nathan H, Goldstein I ve ark. The efficacy and tolerability of vardenafil, a new, oral, selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in patients with erectile dysfunction: the first at-home clinical trial. *Int J Impot Res*. 2001;13: 192-199.
75. Francis SH, Turko IV, Corbin JD. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 2001;65: 1-52.
76. Kukreja RC, Salloum F, Das A, Ockaili R ve ark. Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. *Vascul Pharmacol*. 2005;42: 219-232.
77. Senzaki H, Smith CJ, Juang GJ, Isoda T ve ark. Cardiac phosphodiesterase 5 (cGMP-specific) modulates beta-adrenergic signaling in vivo and is down-regulated in heart failure. *Faseb J*. 2001;15: 1718-1726.
78. Das A, Xi L, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J Biol Chem* 2005;280: 12944–12955.
79. Choi S, O'Connell L, Min K, Kim NN ve ark. Efficacy of vardenafil and sildenafil in facilitating penile erection in an animal model. *J Androl*. 2002;23: 332-337.
80. Fukasawa M, Nishida H, Sato T, Miyazaki M ve ark. Cilostazol, a Phosphodiesterase Type 3 Inhibitor, Reduces Infarct Size via Activation of Mitochondrial Ca<sup>2+</sup>-Activated K<sup>+</sup> Channels in Rabbit Hearts. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;326: 100-104.

81. Tosaka S, Makita T, Tosaka R, Maekawa T ve ark. Cardioprotection induced by olprinone, a phosphodiesterase III inhibitor, involves phosphatidylinositol-3-OH kinase-Akt and a mitochondrial permeability transition pore during early reperfusion. *J Anesth.* 2007;21: 176-180.
82. Sanada S, Kitakaze M, Papst PJ, Asanuma H ve ark. Cardioprotective effect afforded by transient exposure to phosphodiesterase III inhibitors: the role of protein kinase A and p38 mitogen-activated protein kinase. *Circulation.* 2001;104: 705-710.
83. Pamboukian SV, Carere RG, Webb JG, Cook RC ve ark. The use of milrinone in pre-transplant assessment of patients with congestive heart failure and pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant.* 1999;18: 367-371.
84. Sebkhii A, Strange JW, Phillips SC, Wharton J ve ark. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2003;107: 3230-3235.
85. Raja SG, Nayak SH. Sildenafil: emerging cardiovascular indications. *Ann Thorac Surg.* 2004;78: 1496-1506.
86. Pfizer Inc: Viagra U.S. Product Prescribing Information, October 2007.
87. Kalsi JS, Ralph DJ, Thomas P, Bellringer J ve ark. A nitric oxide-releasing PDE5 inhibitor relaxes human corpus cavernosum in the absence of endogenous nitric oxide. *J Sex Med.* 2005;2: 53-57.
88. Lee MR, Li L, Kitazawa T. Cyclic GMP causes Ca<sup>2+</sup> desensitization in vascular smooth muscle by activating the myosin light chain phosphatase. *J Biol Chem.* 1997;272: 5063-5068.

89. Gragasin FS, Michelakis ED, Hogan A, Moudgil R ve ark. The neurovascular mechanism of clitoral erection: nitric oxide and cGMP-stimulated activation of BK<sub>Ca</sub> channels. *Faseb J.* 2004;18: 1382–1391.
90. Bremer YA, Salloum F, Ockaili R, Chou E ve ark. Sildenafil citrate (viagra) induces cardioprotective effects after ischemia/reperfusion injury in infant rabbits. *Pediatr Res.* 2005;57: 22-27.
91. Reffelmann T, Kloner RA. Effects of sildenafil on myocardial infarct size, microvascular function, and acute ischemic left ventricular dilation. *Cardiovasc Res.* 2003;59: 441-449.
92. Raja SG. Cardioprotection with sildenafil: implications for clinical practice. *Curr Med Chem.* 2006;13: 3155-3164.
93. Bolli R, Becker L, Gross G, Mentzer R Jr ve ark. Myocardial protection at a crossroads: the need for translation into clinical therapy. *Circ. Res.* 2004;95: 125-134.
94. Hirata K, Adji A, Vlachopoulos C, O'Rourke MF. Effect of sildenafil on cardiac performance in patients with heart failure. *Am J Cardiol.* 2005 Nov 15;96(10):1436-1440.
95. Fisher PW, Salloum F, Das A, Hyder H ve ark. Phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity. *Circulation* 2005;111: 1601–1610.
96. Xu W, Liu Y, Wang S, McDonald T ve ark. Cytoprotective role of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in the cardiac inner mitochondrial membrane. *Science* 2002;298: 1029–1033.

97. Wang X, Fisher PW, Xi L, Kukreja RC. Essential role of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$ -activated and ATP-sensitive  $\text{K}^+$  channels in sildenafil-induced late cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;44: 105-113.
98. Takashi E, Wang Y, Ashraf M. Activation of mitochondrial K<sub>ATP</sub> channel elicits late preconditioning against myocardial infarction via protein kinase C signaling pathway. *Circ Res* 1999;85: 1146–1153.
99. Gross GJ. The role of mitochondrial K<sub>ATP</sub> channels in cardioprotection. *Basic Res Cardiol* 2000; 95: 280–284.
100. Kukreja RC, Ockaili R, Salloum F, Yin C ve ark. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition--a novel preconditioning strategy. *J Mol Cell Cardiol.* 2004;36: 165-173.
101. Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D ve ark. Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991;338: 1173-1174.
102. Michelakis ED. The role of the NO axis and its therapeutic implications in pulmonary arterial hypertension. *Heart Fail Rev* 2003;8: 5-21.
103. Corbin JD, Francis SH. Cyclic GMP phosphodiesterase-5: target of sildenafil. *J Biol Chem* 1999;274: 13729-13732.
104. Tantini B, Manes A, Fiumana E, Pignatti C ve ark. Antiproliferative effect of sildenafil on human pulmonary artery smooth muscle cells. *Basic Res Cardiol* 2005;100: 131-138.
105. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, Kojonazarov B ve ark. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104: 424-428.



106. Schermuly RT, Kreisselmeier KP, Ghofrani HA, Yılmaz H ve ark. Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:39-45.
107. Rondelet B, Kerbaul F, Van Beneden R, Motte S. Ve ark. Signaling molecules in overcirculation-induced pulmonary hypertension in piglets: effects of sildenafil therapy. *Circulation* 2004;110: 2220-2225.
108. Wilkens H, GuthA, König J, Forestier N ve ark. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104: 1218–1222.
109. Michelakis E, Tymchak W, Lien D, Webster L ve ark. Oral sildenafil is an effective and specific pulmonary vasodilator in patients with pulmonary arterial hypertension: comparison with inhaled nitric oxide. *Circulation* 2002;105: 2398-2403.
110. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, Olschewski H ve ark. Combination therapy with oral sildenafil and inhaled iloprost for severe pulmonary hypertension. *Ann Intern Med* 2002;136: 515-522.
111. Sastry BK, Narasimhan C, Reddy NK, Raju BS. Clinical efficacy of sildenafil in primary pulmonary hypertension: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43: 1149-1153.
112. Sharp PE, La Regina MC. Important biological features. In: *The Laboratory Rat*. Suchow MA (ed), Florida: CRC Pres. 1998; 1-15.
113. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. National Academy Press. Washington D.C. 1996; 1-71.

114. Gulec S, Aydin Y, Uzuner K, Yelken B ve ark. Effects of clonidine pre-treatment on bupivacaine and ropivacaine cardiotoxicity in rats. *Eur J Anaesthesiol.* 2004;21: 205–209.
115. Shi B, Heavner JE. Nitric oxide modulation affects the tissue distribution and toxicity of bupivacaine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2000;66: 623-629.
116. Castro MM, Rizzi E, Rascado RR, Nagasaki S ve ark. Atorvastatin enhances sildenafil-induced vasodilation through nitric oxide-mediated mechanisms. *Eur J Pharmacol.* 2004;498: 189-194.
117. Graca JR, Leal PR, Gondim FA, Rola FH ve ark. A plethysmometric method for gastric compliance studies in anesthetized rats. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2000;43: 25-30.
118. Xin YF, Zhou GL, Deng ZY, Chen YX ve ark. Protective effect of *Lycium barbarum* on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Phytother Res.* 2007;21: 1020-1024.
- 120.119. Rodriguez Ferreira Rivero DH, Sasaki C, Lorenzi-Filho G, Nascimento Saldiva PH. PM(2.5) induces acute electrocardiographic alterations in healthy rats. *Environ Res.* 2005;99: 262-266.
120. Girchev R, Markova P. Blood pressure variability in conscious spontaneously hypertensive rats during endothelin A receptor inhibition. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2004;26: 25-29.
121. Heavner JE, Shi B, Pitkänen M. Nitric oxide synthesis inhibition enhances bupivacaine cardiotoxicity. *Reg Anesth.* 1996;21: 243-248.
122. Morrison SG, Dominguez JJ, Frascarolo P, Reiz S. A comparison of the electrocardiographic cardiotoxic effects of racemic bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine in anesthetized swine. *Anesth Analg.* 2000;90: 1308-1314.

123. Lefrant JY, de La Coussaye JE, Ripart J, Muller L ve ark. The comparative electrophysiologic and hemodynamic effects of a large dose of ropivacaine and bupivacaine in anesthetized and ventilated piglets. *Anesth Analg.* 2001;93: 1598-1605.
124. Colle I, De Vriese AS, Van Vlierberghe H, Lameire NH ve ark. Systemic and splanchnic haemodynamic effects of sildenafil in an in vivo animal model of cirrhosis support for a risk in cirrhotic patients. *Liver Int.* 2004;24: 63-68.
125. Hassan MA, Ketat AF. Sildenafil citrate increases myocardial cGMP content in rat heart, decreases its hypertrophic response to isoproterenol and decreases myocardial leak of creatine kinase and troponin T. *BMC Pharmacol.* 2005; 5: 10.
126. Feldman HS, Arthur GR, Covino BG. Comparative systemic toxicity of convulsant and supraconvulsant doses of intravenous ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine in the conscious dog. *Anesth Analg.* 1989;69: 794-801.
127. Nancarrow C, Rutten AJ, Runciman WB, Mather LE. Myocardial and cerebral drug concentrations and the mechanisms of death after fatal intravenous doses of lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine in the sheep. *Anesth Analg.* 1989;69: 276-283.
128. Groban L, Deal DD, Vernon JC, James RL. Ventricular arrhythmias with or without programmed electrical stimulation after incremental overdosage with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine. *Anesth Analg.* 2000;91: 1103-1111.

**EKLER:**

**EK-1.**



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

35340, Inciraltı, İzmir-232 277777-2254  
<http://tp.deu.edu.tr/etik/deneysel/>

Sayı : 53  
Tarih : 08/05/2007  
Toplantı No : 04/10/2007  
Toplantı Tarihi : 04/05/2007


**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

48/2007 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Dr. Senay AYÖZEN'in sorumlu olduğu "Sıçanlarda bupivakam kardiyotoksitesine sildenafilin etkileri" isimli projenin; özütünün tamamlanması, istatistiksel yöntemin gözden geçirilmesi gerekmektedir. Firma-çıkar ilişkisi belgesinin düzenlenip gönderilmesinden sonra projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

**Prof. Dr. Mustafa OLGUNER**  
Deney Hayvanı Araştırmaları  
Etik Kurulu Başkanı

EK-2.

 STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX							
Title		Pfizer Pharmaceuticals Group – Statement of Investigation					
Identifier	CT15-2	Effective Date	28-Oct-2005	Superseded SOP	CT15-2 03-Mar-2003	Page	1 of 3

Date:	Request Number: XXXXXX	Sponsor: XXXXXXXXXXXXX
Compound Requested: Sildenafil		Amount: 180mg
Investigator: Dr. Senay Ayozen		Institution: Medical Faculty of Dokuz Eylül University
Title: Cardioprotective Effect of Sildenafil on Bupivacaine cardiotoxicity in rats		Department: Anesthesiology and Reanimation
Phone: +905055251399	Address: Dokuz Eylül Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD. Narlıdere İZMİR	
Fax:		
e-mail: senayayozen77@hotmail.com		

Please type a detailed explanation of the proposed studies using Pfizer compound(s) in the space provided below

<b>Study Title:</b> Cardioprotective Effect of Sildenafil on Bupivacaine cardiotoxicity in rats
<b>Key Words:</b> Cardioprotection, sildenafil, bupivacaine cardiotoxicity
Bupivacaine is a local anesthetic drug which can be cardiotoxic when used intravenous accidentally. Sildenafil can be cardioprotective through mitochondrial ATP potassium channels. We want to investigate sildenafil can be cardioprotective on bupivacaine cardiotoxicity in rats.

The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

**Pfizer Confidential**





STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX

<b>Title</b>	<b>Pfizer Pharmaceuticals Group – Statement of Investigation</b>						
<b>Identifier</b>	CT15-2	<b>Effective Date</b>	28-Oct-2005	<b>Superseded SOP</b>	CT15-2 03-Mar-2003	<b>Page</b>	2 of 3

--

Please type a brief justification for the amount of compound(s) requested.

<p><b>Experimental groups:</b></p> <p><b>Group 1 (n=8):</b> 2mL of intravenous plus bupivacaine 3mg/kg/minute intravenous infusion</p> <p><b>Group 2 (n=8):</b> 2ml 0.01mg/kg sildenafil intravenous plus bupivacaine 3mg/kg/minute intravenous infusion</p> <p><b>Group 3 (n=8):</b> 2ml 0.1mg/kg sildenafil intravenous plus bupivacaine 3mg/kg/minute intravenous infusion</p> <p><b>Group 4 (n=8):</b> 2ml 1mg/kg sildenafil intravenous plus bupivacaine 3mg/kg/minute intravenous infusion</p> <p><b>Group 5 (n=8):</b> 2ml 10 mg/kg sildenafil intravenous plus bupivacaine 3mg/kg/minute intravenous infusion</p>
---


The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

**Pfizer Confidential**



STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX

<b>Title</b>	Pfizer Pharmaceuticals Group – Statement of Investigation						
<b>Identifier</b>	CT15-2	<b>Effective Date</b>	28-Oct-2005	<b>Superseded SOP</b>	CT15-2 03-Mar-2003	<b>Page</b>	3 of 3

PFIZER USE ONLY		
Is active ingredient available locally for supply?		YES
Medical Director: On-behalf of Medical Director, Therapeutic Area Manager:	MD, Çiğdem Yücel 	Date: 21.03.2007
Team Leader:		Date
Director, Medical Operations:		Date
VP, Quality Control:		Date

Return the completed form to Mr. Dennis W. Owens by mail to:

Pfizer Central Research, Research & Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340

The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

Pfizer Confidential

**STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX**

<b>Title</b>	<b>Pfizer Pharmaceuticals Group – Compound Transfer Agreement</b>						
<b>Identifier</b>	<b>CT15-3</b>	<b>Version Date</b>	<b>28-Oct-2005</b>	<b>Superseded Appendix</b>	<b>CT15-3 03-Mar-2003</b>	<b>Page</b>	<b>1 of 4</b>

Date: 21.03.2007

Medical Faculty of Dokuz Eylul University

Department of Anesthesiology and Reanimation

Narlıdere / Izmir

Dear Senay Ayozen ,

We have received your (the "Investigator") request for a sample of a Pfizer Compound **sildenafil** (the "Material"), to be used in your laboratory under your supervision. Please complete the attached Statement of Investigation Form, which will inform Pfizer of your intended use of our compound. Before the Material can be sent to you, we will require that you confirm your agreement to the conditions of delivery, by signing the Compound Transfer Agreement ("Agreement") below and, have the Agreement signed by an authorized individual at Medical Faculty of Dokuz Eylul University Department of Anesthesiology and Reanimation. The execution of this Agreement places no obligation on Pfizer to supply the Material to you. Any decision to supply the Material will be made at Pfizer's sole discretion upon review of the completed Statement of Investigation Form.

**1. PARTIES OF THE AGREEMENT:**

The parties to this Agreement are Pfizer and its Affiliates ("Pfizer") and Medical Faculty of Dokuz Eylul University Department of Anesthesiology and Reanimation. (the "Institution"), effective as of 21.03.2007

**2. SCOPE OF WORK:**

The research ("Research") is described in the Statement of Investigation Form, which is attached to and made part of this Agreement as Exhibit A. The use of the Material, is limited to the Research under the Investigator's direction.

**3. MATERIAL:**

---

*The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.*

**Pfizer Confidential**





## STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX

<b>Title</b>	<b>Pfizer Pharmaceuticals Group – Compound Transfer Agreement</b>						
<b>Identifier</b>	<b>CT15-3</b>	<b>Version Date</b>	<b>28-Oct-2005</b>	<b>Superseded Appendix</b>	<b>CT15-3 03-Mar-2003</b>	<b>Page</b>	<b>2 of 4</b>

- (a) The Investigator and the Institution acknowledge that the Material is for laboratory use only and is not for consumption by, or treatment of, humans or non-laboratory animals.
- (b) The Investigator and the Institution will use the Material in compliance with all applicable federal, state and local laws, regulations and ordinances.
- (c) The Investigator and the Institution will not make the Material available to any third party or to any person who is not subject to the Investigator's direct supervision.
- (d) At the conclusion of the Research, the Investigator will return any unused portion of the Material to Pfizer at the following address: Manager, Sample Bank, Pfizer Inc, Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340-5146.

#### 4. REPORT:

The Investigator will inform Pfizer of the results of the Investigator's work with the Material in the Research ("Results"). The Investigator will inform Pfizer in writing of the Results at the conclusion of the research or within one (1) year of receiving the Material, whichever is sooner. The Results will be provided as a written report, issued to Mr. Donnie W. Owens, Manager, Compound Transfer, Research and Development Operations, Pfizer Inc, Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340-5146.


#### 5. PUBLIC DISCLOSURE:

- (a) Pfizer shall not publish any of the Investigator's data without the Investigator's written permission.
- (b) Pfizer encourages the exercise of academic freedom and shall have no right to prevent the Investigator and the Institution from publishing or presenting any findings from the Research. Notwithstanding the foregoing, the Investigator and the Institution acknowledge Pfizer's role as discoverer of the Material and, before they publish or present any findings from the Research relating to the Material, they will provide Pfizer with an opportunity to respond to such findings. In the case of any publications planned by the Investigator or the Institution, they will provide Pfizer with a copy of the proposed submission for publication at least thirty (30) days before its submission. In the case of any oral presentation to a third party, they will provide Pfizer with copies of any audiovisual materials, including slides, at least twenty-one (21) days before the presentation.

---

The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

**Pfizer Confidential**

 <b>STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX</b>							
Title	Pfizer Pharmaceuticals Group – Compound Transfer Agreement						
Identifier	CT15-3	Version Date	28-Oct-2005	Superseded Appendix	CT15-3 03-Mar-2003	Page	3 of 4

#### 6. INTELLECTUAL PROPERTY:

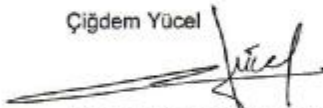
Neither the Investigator nor the Institution shall have any property rights in the Material or in any information that Pfizer discloses to either of them relating to the Material. Except and only to the extent necessary for the Investigator to use the Material in the Research, neither the Investigator nor the Institute is granted any license, express or implied, under any Pfizer patent or patent application, or under any patent or patent application under which Pfizer is licensed.

#### 7. INVENTION:

- (a) "Invention" means any invention or discovery, patentable or not, claiming the manufacture, use or sale of the Material which is first conceived or first reduced to practice by the Investigator, by any person under the Investigator's direct supervision, or by the Institution in performance of the Research.
- (b) The Institution will promptly inform Pfizer in writing of any Invention upon its notification to the Institute's office responsible for receiving invention disclosures.
- (c) The Institution is not obliged under this agreement to obtain or maintain any intellectual property protection for Inventions.
- (d) The Institution will grant to Pfizer a worldwide, perpetual, nonexclusive, royalty-free license to practice Inventions in the manufacture, use, import, offer for sale and sale of Pfizer's pharmaceutical products.

Sincerely,

Çiğdem Yücel



Therapeutic Area Manager

21.03.2007

---

The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

**Pfizer Confidential**



**STANDARD OPERATING PROCEDURE APPENDIX**

<b>Pfizer Pharmaceuticals Group – Compound Transfer Agreement</b>							
<b>Title</b>							
<b>Identifier</b>	CT15-3	<b>Version Date</b>	28-Oct-2005	<b>Superseded Appendix</b>	CT15-3 03-Mar-2003	<b>Page</b>	4 of 4

**INSTITUTION:** I represent to have authority to execute this Agreement on behalf of Institution:

**INVESTIGATOR:** while not a party to this agreement, acknowledges that they have read this agreement and understands their obligations as an Institution employee

By: [Signature]  
Institution Signature

[Signature]  
Investigator's Signature

(Prof. Dr.) Zahide Elar  
Printed Name

(Dr.) SENAY AYDZEN  
Printed Name

Prof. Dr.  
Title

06/04/07  
Date

06/04/07  
Date

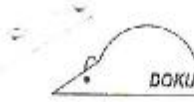
Approved:

[Signature] May 7, 2007  
Date  
Compounds Transfer Manager/  
Administrator, Compound Control Center,  
Pfizer Global Research and Development

The official version of this document is located in the electronic document repository accessible via the global SOP Portal.

**Pfizer Confidential**

**EK-3.**



**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

35310, Inciraltı, İzmir 232 412254  
<http://deu.edu.tr/tip-fakultesi/etik-ideneyetik/>

**Sayı** : 41  
**Tarih** : 14/04/2008  
**Toplantı No** : 04/08/2008  
**Toplantı Tarihi** : 11/04/2008

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

48/2007 Protokol No'lu; Anesteziyoloji Anabilim Dalı Doktorlarından Dr.Şenay AYÖZEN'in sorumlu olduğu "Sıçanlarda bupivakain kardiyotoksitesine sildenafilin etkileri" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

**Prof. Dr. Mustafa OLGUNER**  
**Deney Hayvanı Araştırmaları**  
**Etik Kurulu Başkanı**