



## Timokinon'un Bupivakainin Neden Olduğu Kardiyotoksosite Üzerine Etkileri

### *The Effects of Thymoquinone on Bupivacaine-Induced Cardiotoxicity*

Ersöz Gonca<sup>1\*</sup> , Duygu Çatlı<sup>1</sup> , Salih Erdem<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zonguldak, Türkiye

<sup>2</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

### Öz

Bupivakain bölgesel anestezide en sık kullanılan lokal anesteziklerden biridir. Yanlışlıkla sistemik dolaşıma verilen aşırı doz bupivakain, ventriküler aritmilere ve kardiyak arreste sebep olabilmektedir. Bupivakaine bağlı hasta ölümlerini azaltmak amacıyla yeni tedavi yöntemlerinin araştırıldığı deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Timokinon antiinflamatuvar, serbest radikal temizleme ve güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Timokinon miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı ve aritmilere karşı koruyucu etkilidir. Siklofosfamid'in neden olduğu kardiyak toksisiteyi engellediği bildirilmiştir. Ancak, timokinon'un bupivakain'in neden olduğu kardiyak toksisite üzerine etkileri araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı timokinon'un bupivakain kardiyotoksitesini üzerine tedavi edici etkisini araştırmaktır. Çalışmamızda 12 adet erkek Wistar albino türü sıçan iki gruba ayrıldı. I) Kontrol grubu ve II) Timokinon grubu. Bupivakain her iki grupta anestezisi altındaki hayvanlara 3 mg/kg/dk dozda kalbin durduğu ana kadar (asistoli süresi) intravenöz (iv) yolla infüzyonla verildi. Timokinon grubunda 20 mg/kg/ml dozda timokinon kontrol grubunda ise timokinonun çözücüsü olan 1 ml hacimde 1:1 oranında DMSO/serum fizyolojik karışımı, bupivakain infüzyonundan 10 dakika önce intraperitoneal (ip.) yolla bolus enjeksiyon ile verildi. Timokinon verilen grupta bupivakain verildikten sonra, ortalama arteriyel kan basıncı'nın %50 azaldığı zamana kadar geçen süre kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir (Kontrol: 499 ± 26 sn ve timokinon: 714 ± 35 sn, P<0.05). Ancak, timokinon tedavisi asistoli süresini etkilememiştir. Timokinon çalışmamızda sınırlı düzeyde koruyucu etki göstermiştir. Timokinon'un uzun süreli kronik tedavisi koruyucu etkisini artırabilir. Timokinon'un farklı veriliş yolları ve kronik tedavisinin bupivakain toksisitesine olan etkisinin araştırıldığı çalışmaların yapılması gereklidir.


**Anahtar Kelimeler:** Bupivakain, Kardiyotoksosite, Timokinon, Sıçan


### Abstract


Bupivacaine is one of the local anesthetics which is most commonly used in regional anesthesia. Bupivacaine which is given in excessive doses to systemic circulation by mistake may lead to ventricular arrhythmias and cardiac arrest. Experimental studies investigating new treatment methods have been conducted to reduce bupivacaine-induced patient deaths. Thymoquinone has anti-inflammatory, free radical scavenging and strong antioxidant properties. Thymoquinone is protective agent against myocardial ischemia/reperfusion injury and arrhythmias. It has been reported that thymoquinone inhibits cyclophosphamide-induced cardiac toxicity. However, the effects of thymoquinone on bupivacaine-induced cardiac toxicity have not been researched. The aim of the present study is to research the therapeutic effect of thymoquinone on bupivacaine-induced cardiotoxicity. 12 male Wistar albino rats were divided into two groups in our study. I) Control group and II) Thymoquinone group. Bupivacaine at a dose of 3 mg/kg/dk was administered in both group via intravenous (iv.) infusion until the time of cardiac arrest (asystole time) in anesthetized animals. Thymoquinone, at a dose of 20 mg/kg/ml and its solvent DMSO/SF mixture (1:1) in a volume of 1 ml was given with bolus injection via intraperitoneal infusion 10 min prior to the bupivacaine infusion respectively in thymoquinone and control groups. The time to 50% decrease in mean arterial blood pressure was significantly increased in the thymoquinone group compared to the control group following the bupivacaine administration (Control: 499 ± 26 s and thymoquinone: 714 ± 35 s, P < 0.05). However, thymoquinone therapy did not affect the asystole period. In the present study, thymoquinone revealed a limited cardioprotective effect. The long-term chronic treatment of thymoquinone may increase its protective effect. The studies that research the different administration routes of thymoquinone and the effects of its chronic therapy should be undertaken.

**Keywords:** Bupivacaine, Cardiotoxicity, Thymoquinone, Rat

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: [ersozgonca67@hotmail.com](mailto:ersozgonca67@hotmail.com)

Ersöz Gonca  [orcid.org/0000-0002-7527-4634](https://orcid.org/0000-0002-7527-4634)

Duygu Çatlı  [orcid.org/0000-0001-6735-9358](https://orcid.org/0000-0001-6735-9358)

Salih Erdem  [orcid.org/0000-0003-3277-0539](https://orcid.org/0000-0003-3277-0539)

## 1. Giriş

Bupivakain yaygın olarak kullanılan amino-amid türevi lipofilik lokal anestetik ajandır. Doğum aneljezisi, postoperatif ağrı ve periferik sinir blokları için yaygın olarak kullanılır (Kayhan 1997). Bupivakain uygun dozlarda kullanıldığında sınırlı düzeyde yan etkiye sahip güvenilir bir anestetik maddedir (Cooper ve McClure 2008). Ancak, ameliyatlarda kaza ile intravenöz yolla uygulandığında kardiyotoksik etki göstererek ani hasta ölümlerine neden olduğu rapor edilmiştir (Weinberg 2010). Klinikte, bupivakain kardiyotoksisitesine karşı lipit emülsiyon kullanılmaktadır (Weinberg 2008). Ancak daha etkili tedavi yollarının araştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda dobutamin, levosimendan, klonidin, deksmedetomidin, dopeksamin maddelerinin çeşitli deney hayvanlarında etkileri araştırılmıştır (Kandemir vd. 2013, Bilir vd. 2005, Hanci vd. 2009, Gulec vd. 2004).

Bupivakain kardiyak sodyum, potasyum ve kalsiyum iyon kanallarını inhibe ederek kardiyotoksik etki gösterebilir (Clarkson ve Hondeghem 1985, Castle 1990, Valenzuela vd. 1995, Zink vd. 2002). Yüksek dozda bupivakain mitokondriyal solunum kompleks I ve III'ü inhibe ederek mitokondriyal transmembran potansiyeli çöküşüne neden olur. Bu durum mitokondriyal kaynaklı serbest oksijen radikali (SOR) oluşumuna yol açarak apoptozis sürecini başlatır (Grishko vd. 2010, Kovacic ve Somanathan 2011).

Timokinon (2-izopropil-5-metil-1,4-benzokinon) Nigella sativa bitkisinin tohumlarından elde edilen bir etken maddedir. Egzama, baş ağrısı, ateş, ishal, astım, iltihap ve hipertansiyonunda dahil olduğu birçok hastalığın tedavisi için doğal bir çözüm olan timokinon geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Ali ve Blunden 2003). Timokinon antienflamatuar, serbest radikal temizleme ve güçlü antioksidan özelliklere sahiptir (Mansour vd. 2002, El Gazzar vd. 2006, Woo vd. 2012). İskelet kası, beyin ve testis dahil çeşitli organlarda iskemi reperfüzyon hasarını önlediği bildirilmiştir (Hosseinzadeh vd. 2007a, 2007b, 2012, Gökçe vd. 2010). Timokinon'un kalpte iskemi reperfüzyon hasarı ve aritmilere karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Gonca ve Kurt 2015). Antioksidan özelliği nedeniyle siklofosamid'in neden olduğu kardiyotoksisiteye karşı önleyici etkisi olduğu bulunmuştur (Nagi vd. 2011). Oksijen türevli serbest radikalleri süpürücü özelliği ile doksorubisin kardiyotoksisitesini önlediği gösterilmiştir (Mahmoud vd. 2010).

Bupivakaine bağlı kardiyotoksisite üzerine timokinon'un etkileri daha önce araştırılmamıştır. Çalışmamızın hipotezi

timokinon'un antienflamatuar ve antioksidan etkileri yoluyla bupivakain toksisitesine karşı etkili olabileceği şeklinde kurulmuştur (Hosseinzadeh vd. 2007a, b, 2012, Gökçe vd. 2010, Randhawa 2013). Bu nedenle, çalışmamızın amacı bupivakain'in neden olduğu kardiyotoksisiteye karşı timokinon'un önleyici etkisini araştırmaktır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### 2.1. Hayvanlar

Çalışmamızda 10-12 aylık, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 12 adet erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Deney hayvanları, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı San. ve Tic. A.Ş. (Yenimahalle, Ankara/Türkiye)'den satın alındı. Hayvanlar uygun koşullara sahip bir odada yetiştirildi ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklık, %45 - %65 nem ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusu). Deney Hayvanları, musluk suyu tüketti ve standart sıçan pellet yem ile beslendi. Deneyden 12 saat önce aç bırakılan sıçanların sadece su içilmesine izin verildi. Çalışmamızdaki deneysel prosedürler, Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından tartışılarak onaylandı (Protokol no: 2016-21-02/03).

### 2.2. Cerrahi İşlemler

Sıçanlar 1.5 gr/kg dozda intraperitoneal (ip.) yolla verilen üretan ile anestezi edildi (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, ABD). Anestezi edilen sıçanlar rektal problu ısıtıcı tabla üzerine konularak beden ısısı  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de sabit tutuldu (RTC 9404- Ankara, Turkey). Trake kanüle edilerek hayvan suni solunum cihazına bağlandı (tidal volüm: 6ml/kg, solunum frekansı: 70/dk) (SAR-830, Life Sciences, USA). İlaç uygulanması için sol jugular ven ve kan basıncı ölçümü için sağ karotid arter kanüle edildi (Kan basıncı ölçüm cihazı, SS 13 L, California, USA). Bipolar elektrotlar deri altına yerleştirilerek EKG monitörize edildi (Veri toplama sistemi MP35, Biopac Systems, California, USA). Cerrahi işlemlerden sonra hayvanların 15 dakika süre için stabilize olması sağlandı. Arteriyel kan gazının ölçümü için 0.1 ml intravenöz kan alındı. Alınan kanın yerine 0.1 ml ip. serum fizyolojik (SF) infüzyonu yapıldı. Tüm etken maddeler bir infüzyon pompası ile jugular venden verildi (Küçük hayvan infüzyon pompası, Legato 100, USA).

### 2.3. Deney Grupları ve İlaç Tedavisi

Toplam 12 hayvan iki gruba ayrıldı. Grup I: Kontrol (n=6) ve Grup II: Timokinon (n=6). Kontrol grubundaki hayvanlara stabilizasyon periyodundan sonra, bupivakain (Marcaïne, %0,5'lik 20ml, Astra Zeneca, İstanbul, Türkiye) intravenöz (iv.) yolla 3 mg/kg/dk dozda infüzyon yolu ile verildi.

Bupivakain her bir denekte sıçan kalbinin durduğu ana kadar (asistoli süresi) verildi. Timokinin dimetil sülfoksit (DMSO) ve serum fizyolojik (1:1) ile çözüldü. Timokinin grubundaki hayvanlara 20 mg/kg dozda timokinin (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, ABD) bupivakain infüzyonunun başlamasından 10 dakika önce ip. yolla verildi.

#### 2.4. Data Analizleri

Elde edilen kan basıncı ve EKG kayıtlarından kalp atım hızı (KAH) ve ortalama arteriyel kan basıncı (OAB) değerleri hesaplandı (Veri toplama sistemi, MP35, Biopac Systems, California, USA). Bupivakain infüzyonundan önce alınan intravenöz kanda pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> ve pH analizi yapılarak bazal değerler kayıt edildi (Stat Profil Phox Plus L, Nova Biomedical Corp, Waltham, USA). Bupivakain infüzyonundan sonra asistoli görülene kadar geçen süre, asistoli süresine kadar tüketilen bupivakain miktarı, ilk ventriküler aritminin (ventriküler prematüre kasılma, ventriküler taşikardi veya ventriküler fibrilasyon) görüldüğü süre hesaplandı. KAH ve OAB'nin bazal değerlere göre %50, %75 oranında azaldığı zamana kadar geçen süre ve QRS değişikliğinin görüldüğü süre (QRS kompleksinin genişliğindeki %20'den fazla görülen uzama) kayıt edildi.

#### 2.5. İstatistiksel Analiz

Veriler GraphPad programı (GraphPad Prism versiyon 5, San Diego, CA, USA) kullanılarak analiz edildi. Elde edilen verilerin gruplar arasındaki karşılaştırılmasında student'in t testi kullanıldı. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterildi; P < 0.05 değeri anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

### 3. Sonuçlar

Kayıt edilen bazal değerlerde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Timokinin verilen grupta bupivakain verildikten sonra OAB'nin %50 azaldığı zamana kadar geçen süre kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir (Kontrol: 499 ± 26 ve timokinin: 714 ± 35, P < 0.05). OAB'nin %75 azaldığı zamana kadar geçen süre de artış göstermiştir. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

### 4. Tartışma

Çalışmamızda 3mg/kg/dk dozunda verilen bupivakain üreten (1.5 gr/kg) ile anestezi edilen sıçanlarda kardiyotoksik etki göstermiştir. Deney hayvanlarının kullanıldığı benzer çalışmalarda da bupivakain'in kardiyotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir (Kandemir vd. 2013, Dony vd. 2000).

**Çizelge 1.** Bupivakain verilmeden önce kayıt edilen parametreler.

	Kontrol	Timokinin
Ağırlık (gr)	272 ± 8	269 ± 9
Kalp atımı / dakika	446 ± 21	446 ± 4
Ortalama kan basıncı (mmHg)	91 ± 3	95 ± 5
Arteriyel kan pH	7 ± 0.05	7 ± 0.01
Arteriyel kan (mmHg)	182 ± 1	153 ± 0.3
Arteriyel kan (mmHg)	31 ± 0.4	32 ± 0.3

**Çizelge 2.** Bupivakain verildikten sonra kayıt edilen parametreler (Kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında \*P < 0.05 ).

	Kontrol	Timokinin
QRS > %20 (sn)	169.3 ± 2	164 ± 7
İlk aritmi (sn)	191.3 ± 16	225 ± 29
Kalp atımı < %50 (sn)	293 ± 22	268 ± 24
Kalp atımı < %75 (sn)	710 ± 38	674 ± 26
Ortalama arteriyel basınç < %50	499 ± 25	714 ± 35*
Ortalama arteriyel kan basıncı < %75	982 ± 47	1017 ± 61
Asistoli süresi (sn)	1082 ± 48	1103 ± 39
Bupivakain tüketimi	4 ± 0.2	2.98 ± 0.17

Çalışmamızda bupivakain deney hayvanlarının 18 ± 48 dakikada (min. 16 - max. 20) ölümüne neden olmuştur. Benzer şekilde, Dony vd. (2000)'e göre ise aynı dozda verilen bupivakain dietil eter ve tiyopental (20 mg/kg) ile anestezi edilen sıçanların 21 ± 62 dakikada ölümüne yol açtığı gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalardan farklı olarak, Kandemir vd. (2013)'e göre bupivakain'in üreten (1gr/kg) ile anestezi edilen sıçanların ölümüne neden olduğu sürenin medyan değeri 12 dakika (min. 7 - max. 17) olduğu bildirilmiştir. Kandemir vd. (2013)'e göre asistoli süresinin diğer çalışmalara göre daha kısa olmasının olası nedeni kullanılan anestezi madde olan üreten'in dozunun farklı olması olabilir. Bizim çalışmamızda üreten 1.5 gr/kg dozda kullanılmışken, Kandemir vd. 2013 göre ise 1 gr/kg dozda kullanılmışlardır.

Bupivakain'in mitokondriyal transmembran potansiyeli çöküşüne yol açarak SOR oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir (Grishko vd. 2010, Kovacic ve Somanathan 2011). Tian ve Li 2016 göre de bupivakain insan kıkırdak hücrelerinde SOR oluşumuna neden olmuştur. Güçlü bir antioksidan olan vitamin C ise bupivakain'in neden olduğu

SOR oluşumunu azaltarak hücre apoptozisini engellemiştir. Benzer şekilde, Li vd. (2013)'e göre bir başka antioksidan olan ginkgolit B'nin insan sinir hücresinde bupivakain'in neden olduğu apoptozisi önlediği bildirilmiştir. Timokinon güçlü antioksidan, oksijen türevli serbest radikalleri süpürücü ve antienflamatuar özelliklere sahip bir moleküldür (Gonca ve Kurt 2015, Mansour vd. 2002, El Gazzar vd. 2006, Woo vd. 2012). Çalışmamızda timokinon ortalama arteriyel kan basıncının %50 azalma süresini arttırmıştır. Timokinon'un bu koruyucu etkisi, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri ile bupivakain'in neden olduğu apoptozisi önleyerek gerçekleşmiş olabilir.

Timokinon çalışmamızda sınırlı düzeyde koruyucu etki göstermiştir. Timokinon (20 mg/kg, tek doz) ortalama arteriyel kan basıncının %50 azalma süresini arttırmasına rağmen asistoli süresini etkilememiştir. Bu sınırlı etkinin nedeni verilmiş yolu ve uygulama süresi olabilir. Timokinonun uzun süreli kronik tedavisi koruyucu etkisini artırabilir. Timokinon'un farklı verilmiş yolları ve kronik tedavisinin bupivakain toksisitesine olan etkisinin araştırıldığı çalışmaların yapılması gereklidir.

## 5. Teşekkür

Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje kod no: 2016-84906727-02).

## 6. Kaynaklar

- Ali, BH., Blunden, G. 2003.** Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res.*, 17(4): 299-305.
- Bilir, A., Yelken, B., Kaygisiz, Z., Senturk, Y. 2006.** The effects of dexamine in bupivacaine and ropivacaine induced cardiotoxicity in isolated rat heart. *Saudi Med. J.*, 27(8): 1194-1198.
- Castle, NA. 1990.** Bupivacaine inhibits the transient outward K<sup>+</sup> current but not the inward rectifier in rat ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 255(3): 1038-46.
- Clarkson, CW., Hondeghem, LM. 1985.** Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: Fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology*, 62(4): 396-405.
- Cooper, MH., McClure, JH. 2008.** Anesthesia chapter from saving mothers lives reviewing maternal deaths to make pregnancy safer. *Br. J. Anaest.*, 100(1): 17-22.
- Dony, P., Dewinde, V., Vanderick, B., Cuignet, O., Gautier, P., Legrand, E., Lavand'homme, P., Kock, M. 2000.** The Comparative Toxicity of Ropivacaine and Bupivacaine at Equipotent Doses in Rats. *Anesth. Analg.*, 91: 1489-92.

- El Gazzar, M., El Mezayen, R., Nicolls, MR., Marecki, JC., Dreskin, SC. 2006.** Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biochim. Biophys. Acta*, 1760(7): 1088-1095.
- Gonca, E., Kurt, Ç. 2015.** Cardioprotective effect of Thymoquinone: A constituent of *Nigella sativa* L., against myocardial ischemia/reperfusion injury and ventricular arrhythmias in anaesthetized rats. *Pak J Pharm Sci.*, 28(4): 1267-1275.
- Gökçe, A., Oktar, S., Koc, A., Gonenci, R., Yalcinkaya, F., Yonden, Z., Duru, M. 2010.** Protective effect of Thymoquinone in experimental testicular torsion. *Urol Int.*, 85(4): 461-465.
- Grishko, V., Xu, M., Wilson, G. 2010.** Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human chondrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine, and ropivacaine. *J Bone Joint Surg Am.*, 92: 609-18.
- Gulec, S., Aydin, Y., Uzuner, K., Yelken, B., Senturk, Y. 2004.** Effects of clonidine pre-treatment on bupivacaine and ropivacaine cardiotoxicity in rats. *Eur. J. Anaesthesiol.*, 21:205-209.
- Hanci, V., Karakaya, K., Yurtlu, S., Hakimoglu, S., Can, M., Ayoglu, H., Erdogan, G., Okyay, RD., Turan, IO. 2009.** Effects of dexmedetomidine pretreatment on bupivacaine cardiotoxicity in rats. *Reg Anesth. Pain Med.*, 34: 565-568.
- Hosseinzadeh, H., Parvardeh, S., Asl, MN., Sadeghnia, HR., Ziaee, T. 2007.** Effect of thymoquinone and *Nigella sativa* seeds oil on lipid peroxidation level during global cerebral ischemia reperfusion injury in rat hippocampus. *Phytomedicine*, 14(9): 621-627.
- Hosseinzadeh, H., Taiari, S., Nassiri-Asl, M. 2012.** Effect of thymoquinone, a constituent of *Nigella sativa* L., on ischemia-reperfusion in rat skeletal muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 385(5): 503-508.
- Kandemir, U., Maltepe, F., Ugurlu, B., Gokmen, N., Celik, A. 2013.** The effects of levosimendan and dobutamine in experimental bupivacaine-induced cardiotoxicity. *BMC Anesthesiol.*, 13(1):28.
- Kayhan, Z. 1997.** Lokal/Bölgesel anestezi yöntemleri: Klinik Anestezi. 2. Basım, Logos Yayıncılık, İstanbul, s. 270-273.
- Kovacic, P., Somanathan, R., 2011.** Mechanism of Anesthetic Toxicity: Metabolism, Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress, and Electron Transfer. *Anesthesiology*, Vol. 2011, Article ID 402906, 10 pages.
- Li, L., Zhang, Q., Lai, L., Wen, X., Zheng, T., Cheung, C., Zhou, S., Xu, S. 2013.** Neuroprotective Effects of Ginkgolide B on Bupivacaine-Induced Apoptosis in SH-SY5Y Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2013, Article ID 159864, 11 pages.



- Mahmoud, MR., El-Ahbar, HS., Saleh, S. 2002.** The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J. Ethnopharmacol.*, 79: 1-11.
- Mansour, MA., Nagi, MN., El-Khatib, AS., Al-Bekairi, AM. 2002.** Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice: A possible mechanism of action. *Cell Biochem Funct.*, 20(2): 143-151.
- Nagi, MN., Al-Shabanah, OA., Hafez, MM., Sayed-Ahmed, MM. 2011.** Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol.*, 25(3): 135-142.
- Randhawa, MA., Alghamdi, MS., Maulik, SK. 2013.** The effect of thymoquinone an active component of *Nigella sativa*, on isoproterenol induced myocardial injury. *Pak J Pharm Sci.*, 26(6): 1215-1219.
- Tian, J., Li, Y. 2016.** Comparative effects of vitamin C on the effects of local anesthetics ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on human chondrocytes. *Rev. Bras. Anesth.*, 66(1): 29-36.
- Valenzuela, C., Delpon, E., Tamkun, MM., Tamargo, J., Snyders, DJ. 1995.** Stereoselective block of a human potassium channel (K<sup>+</sup>) by bupivacaine enantiomers. *Biophys J.*, 69(2): 418-27.
- Weinberg, GL. 2008.** Lipid infusion therapy: translation to clinical practice. *Anesth Analg*, 106: 1340-2.
- Weinberg, GL. 2010.** Treatment of local anesthetic systemic toxicity (LAST). *Reg Anaest Pain. Med.*, 35(2): 188-193.
- Woo, CC., Kumar, AP., Sethi, G., Tan, KH. 2012.** Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem. Pharmacol.*, 83(4): 443-451.
- Zink, W., Graf, BM., Sinner, B., Martin, E., Fink, RH., Kunst, G. 2002.** Differential effects of bupivacaine on intracellular regulation: Potential mechanisms of its myotoxicity. *Anesthesiology*, 97: 710-6.