

Tavşanlarda Damar İçi Oksitosin ve Metil Ergonovin Enjeksiyonunun QT Süresi Üzerine Etkileri

Metehan UZUN *  Mehmet KARACA ** Birkan TOPÇU *** Yunus KURT ****

* Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu, Çanakkale - TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

*** Kafkas Üniversitesi Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Kars - TÜRKİYE

**** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): 2008/120-A

Özet

Bu araştırma ile tavşanlara oksitosin (OKS) ve metil ergonovinin (ME) yalnız başlarına veya birlikte enjeksiyonları sonrası kalp atım sayısı (KA), QT ve QTc değerlerindeki değişimlerin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla her bir grupta 6 tavşan olacak şekilde 9 grup oluşturulmuş ve enjeksiyonlar yapılmıştır [1. grup (0.5 U OKS/tavşan), 2. grup (1 U OKS/tavşan), 3. grup (3 U OKS/tavşan), 4. grup (0.1 mg ME/tavşan), 5. grup (0.2 mg ME/tavşan), 6. grup (0.3 mg ME/tavşan), 7. grup (0.5 U OKS + 0.1 mg ME/tavşan), 8. grup (1 U OKS + 0.2 mg ME/tavşan) ve 9. grup (3 U OKS + 0.3 mg ME/tavşan)]. Enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 ve 20. dakikalarda EKG kayıtları alınmıştır. Elektrokardiyogram kayıtlarından KA, QT ve QTc değerleri hesaplanmıştır. Oksitosinin yalnız başına veya ME ile birlikte uygulandığı gruplarda enjeksiyon sonrası KA değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır ($P<0.001$). Bu gruplarda aynı zamanda QT ve QTc sürelerinde enjeksiyon sonrası bir kaç dakika devam eden uzamalar da ortaya çıkmıştır ($P<0.001$). Yalnız ME uygulanan gruplarda hiç bir parametrede anlamlı değişikliklere rastlanılmamıştır. Sonuç olarak, OKS uygulamaları sonrası ortaya çıkan kısa süreli ve güçlü bradikardi tablosu ile QT uzamalarının insanlar üzerinde de araştırılması ve olası sonuçların hekimler tarafından dikkate alınmasının faydalı olacağı, ayrıca KA ve QT süresi üzerine olan etkileri yönünden ME'nin OKS'e göre daha güvenli olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Oksitosin, Metil Ergonovin, EKG, QT, Tavşan

The Effects of Intravenous Oxytocin and Methylergonovine Administration on QT Interval in Rabbits

Summary

The aim of this study was to evaluate changes in heart rate (HR), QT, and QTc values in conscious female New Zeland rabbits which intravenously received oxytocin (OXT), methylergonovine (ME) and OXT plus ME at different dosages. Animals were divided in to 9 equal groups; Group 1 (n=6, received 0.5 U OXT per animal), group 2 (n=6, received 1 U OXT per animal), group 3 (n=6, received 3 U OXT per animal), group 4 (n=6, 0.1 mg ME per animal), group 5 (n=6, received 0.2 mg ME per animal), group 6 (n=6, received 0.3 mg ME per animal), group 7 (n=6, received 0.5 U OXT + 0.1 mg ME per animal), group 8 (n=6, received 1 U OXT + 0.2 mg ME per animal) and group 9 (n=6, received 3 U OXT + 0.3 mg ME per animal). Electrocardiographical recording were taken from all animals before injection and then at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 and 20. minutes of each drug administration. The HR, QT and QTc values were estimated from ECG recording. The HR values decreased in OXT and OXT plus ME injected groups ($P<0.001$). In these groups prolongation of QT and QTc intervals were observed after drug injection during the 1-3 minutes ($P<0.001$). There were not determined significant changes of all observed parameters in ME injected groups. In conclusion, it should be taken into consideration by the physicians QT prolongation and short-term and serious bradycardia due to OXT application. The results of the study also suggest that ME may be safer than OXT in terms of HR and QT intervals.

Keywords: Oxytocin, Methylergonovine, ECG, QT, Rabbit

GİRİŞ

Postpartum kanamalar (PPK) insan ¹ ve hayvanlarda ^{2,3} anne ölümlerine neden olan etmenlerin önemlilerinden biri olarak bilinmektedir. Oksitosin (OKS) ve ergot alkaloidleri (EA) uterus kanamalarının kontrol ve

tedavilerinde yalnız başlarına veya kombine olarak kullanılmaktadırlar. Metilergometrin (ME) EA ailesine üye olarak bilinir ve diğer EA'leri ile karşılaştırıldığında daha güçlü uterotonik aktiviteye sahip bir ajandır ⁴.



İletişim (Correspondence)



+90 286 2171001



metehanuzun@hotmail.com

Oksitosinin ise hipotalamusta sentezlenip hipofizden salgılanan 9 amino asitten oluşan bir hormondur.

Son yıllarda, birçok non-kardiyak ilacın ventriküler aksiyon potansiyeli süresini değiştirdiği ve QT süresinde uzamalara neden olduğu ve bu etkilerin çeşitli yollarla torsades de pointes (TDP) tipi ventriküler aritmileri tetikleyebileceği bildirilmektedir ⁵. Oksitosin jinekologlar tarafından yaygın olarak kullanılan bir ajan iken 2001 yılında yayınlanan ve OKS uygulanan iki kadının taşikardiye bağlı öldüğünü belirten bir raporun ardından bu ilacın kardiyovasküler yan etkilerine dikkat çekilmeye başlanmıştır ⁶. Daha sonraki yıllarda OKS'in QT süresi üzerine etkilerini araştıran çalışmaların bir tanesi sezeryan operasyonu esnasında OKS uygulanan kadınlar üzerinde yürütülmüş ve OKS'in QT süresini uzattığı rapor edilmiştir ⁷. Uzun ve ark.⁸, ise OKS uygulanan dişi ve erkek uyanık tavşanlarda kalp atım sayılarında azalma ile QT süresinde uzamalar belirlediklerini bildirmişlerdir. Metil ergonovininin QT süresi üzerine etkisini ortaya koyan bir çalışmaya ise rastlanılamamıştır. Oysa son yıllarda OKS ve ergometrin karışımları her iki ilacın avantajlarının birlikte değerlendirilmesi amacı ile kullanılmaya başlanmıştır ⁹.

İdeal bir uterotonik ajanın güçlü ve hızlı bir uterotonik etkiye sahip olması istenirken diğer organ ve sistemler üzerine herhangi bir yan etki göstermesi istenilmeyen bir özellik olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle çalışmada QT süresi üzerine etkisi bilinen OKS ile bu etkisi henüz ortaya konulmamış ME'i yalnız başlarına ve birlikte uygulanmasının kalp atım sayısı (KA) ve QT süresi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan materyali

Bu araştırma 8-10 aylık, ortalama canlı ağırlıkları 2.1-2.6 arasında değişen dişi Yeni Zelanda ırkı tavşanlar üzerinde yürütülmüştür. Araştırma süresince tavşanlar kafeslerinde sürekli olarak su ve yem bulundurulmuşlardır. Elektrotların tutturulacağı bölgeler en az 3 gün önceden traş edilmiştir. Tavşanlar uygulamanın yapılacağı laboratuvara yaklaşık 1 saat önceden getirilip ortama alışmaları sağlanmıştır. EKG kaydı için heyecanlı görülen tavşanlar çalışmadan çıkarılmıştır.

Grupların Oluşturulması ve Enjeksiyonlar

Tavşanlar her bir grupta 6 tavşan olacak şekilde

toplam 9 gruba ayrılmıştır. Piyasadan temin edilen OKS (Synpitan, 5 U/l cc, DEVA Holding A. Ş., İstanbul) ve ME (Metiler, 0.2 mg/ml, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. Tic. A. Ş., Samsun) tavşanların kulak venasından tek seferde verilmiştir. İlaçların verilmesi dozu ve gruplar aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

1. grup: n=6, 0.5 U OKS/tavşan,
2. grup: n=6, 1 U OKS/tavşan,
3. grup: n=6, 3 U OKS/tavşan,
4. grup: n=6, 0.1 mg ME/tavşan,
5. grup: n=6, 0.2 mg ME/tavşan,
6. grup: n=6, 0.3 mg ME/tavşan,
7. grup: n=6, 0.5 U OKS + 0.1 mg ME/tavşan,
8. grup: n=6, 1 U OKS + 0.2 mg ME/tavşan,
9. grup: n=6, 3 U OKS + 0.3 mg ME/tavşan.

EKG Kaydının Yapılması

Elektrokardiyogram kayıtları Uzun ve ark.'nın ⁸ bildirdiği yöntemle göre yapılmıştır. Ekstremitelere tutturulan elektrotlar vasıtası ile enjeksiyon öncesi (0. dakika) ve enjeksiyon sonrası 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 ve 20. dakikalarda EKG kayıtları dijital ortamda alınmıştır (Poly-Spectrum 12 channel ECG-System, Poly-Spectrum-8, Neurosoft, 5, Voronin str., Ivanovo, Rusya). EKG kayıtları 1 mV=20 mm, hız 50 mm/sn ve filtre (35 Hz) açık şekilde alınmış, I, II, III, aVR, aVL; ve aVF derivasyonları kaydedilmiştir. QT süresi Q dalgasının başlangıcından T dalgasının sonuna kadar olan süre hesaplanarak belirlenmiştir. Düzeltilmiş QT süresi (QTc) ise Fridericia'nın ¹⁰ belirlediği formüle göre hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analiz

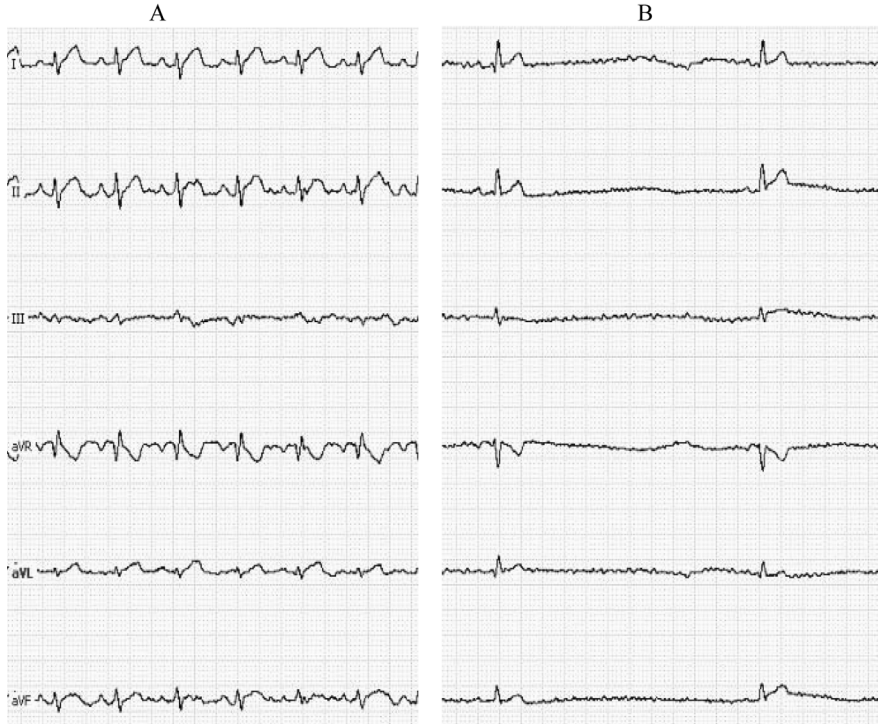
Grupların ortalama kalp atım sayısı, QT ve QTc değerleri enjeksiyon öncesi (0. dakika) ve enjeksiyon sonrası 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 18 ve 20. dakikalar açısından One-way ANOVA (Turkey's t-test) testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. (MINITAB paket programı, Version 11.2). Değerlerdeki değişimlere zaman veya ilaçların etkisini belirlemek amacı ile ise multiple ANOVA yöntemi uygulanmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada OKS ve ME'in birlikte veya yalnız başlarına kullanımlarının Kalp atım sayısı (KA), QT ve QTc değerleri üzerine olan etkilerinin zamana bağlı olarak değişip değişmediği araştırılmış ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

İncelenen bu 3 parametre içinde en dikkat çekici değişiklikler KA'da gözlemlenmiştir. Özellikle enjeksiyonun hemen sonrası OKS uygulanan gruplarda bir çok tavşanda alınabilen 10-40 saniye sonrası EKG verilerinde şiddetli bir bradikardi tablosu ortaya çıkmıştır (Şekil 1B). Araştırma uyanık tavşanlarda yürütüldüğü için her tavşanda enjeksiyon sonrası 10-40 sn verileri

grupların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı değişikliklere rastlanmamıştır. OKS ve ME'nin birlikte verildiği gruplarda ise yine enjeksiyon sonrası KA değerlerinin üç grupta da 20 dakika boyunca enjeksiyon öncesi değerlerin altında seyrettiği ancak sadece belli dakikalarda istatistiksel olarak önem gösterdiği anlaşılmaktadır (Şekil 3; $P < 0.001$).



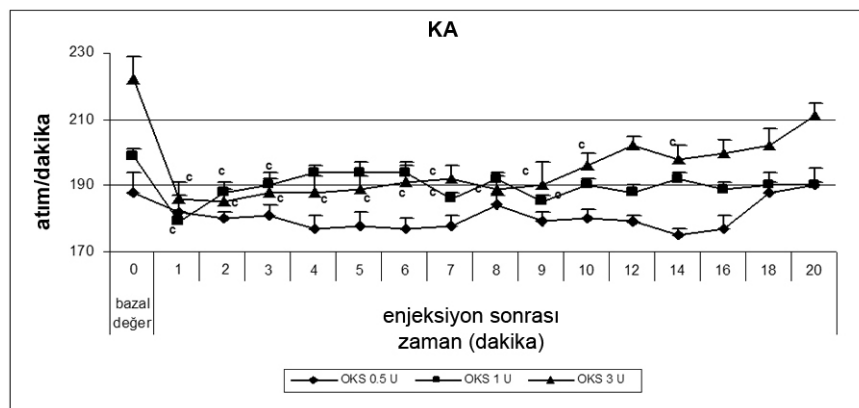
Şekil 1. Bir tavşana ait uygulama öncesi normal bir EKG (A); Oksitosin uygulanan gruplarda uygulama sonrası bazı tavşanlarda 10-40 sn içerisinde ortaya çıkan bradikardi tablosunu gösteren EKG (B; 1 mV=20 mm, hız 50 mm/s)

Fig 1. The normal ECG of a rabbit (A); the bradycardia on rabbits at 10-40 s after oxytocin injection (B; 1 mV=20 mm; chart speed 50 mm/s)

elde edilememiştir. Yalnız başına OKS uygulanan 3 grupta 1. dakikadan itibaren başlayan KA'da bir azalma kaydedilmiştir. Bu azalmaların 1. grupta ancak 18. dakikada enjeksiyon öncesi değere ulaştığı, II. ve III. grupta ise 20 dakika boyunca enjeksiyon öncesi değerlerin altında kaldığı ve bu azalmaların ilk 10 dakika boyunca genelde istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (Şekil 2; $P < 0.001$).

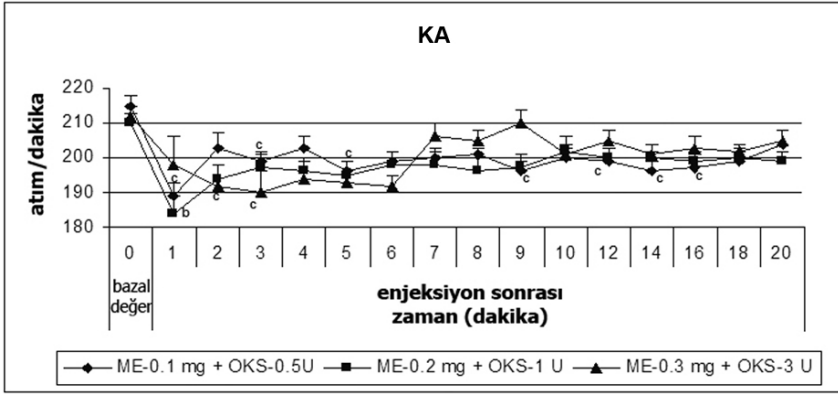
QT ve QTc açısından bakıldığında ise ME ve OKS-ME birlikte uygulanan grupların hiçbirinde anlamlı değişiklikler ortaya çıkmamıştır. Yalnız başına 1 U OKS uygulanan grupta ise QT için enjeksiyon sonrası 1, 2 ve 3. dakikalarda (Şekil 4; $P < 0.001$), QTc için ise 1. dakikada istatistiksel olarak anlamlı uzamalar kaydedilmiştir (Şekil 5; $P < 0.001$). Ancak sadece OKS uygulanan tüm gruplarda 1. dakikadan itibaren başlayan ve 20 dakika devam eden uzamalar istatistiksel olarak önemli olmasa da dikkat çekmektedir.

Kalp atım sayıları açısından ME enjekte edilen



Şekil 2. Oksitosin uygulanan gruplara ait enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki kalp atım sayılarındaki değişimlerin gösterilmesi (c $P < 0.001$)

Fig 2. The heart rates changes in groups before and after oxytocin injection (c $P < 0.001$)

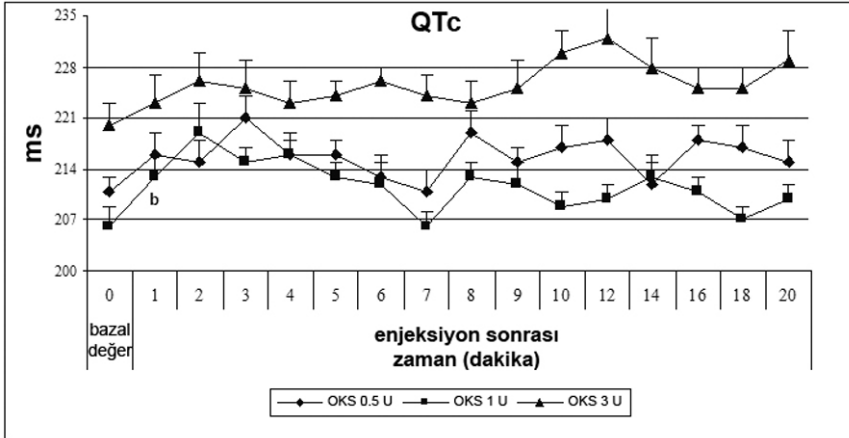
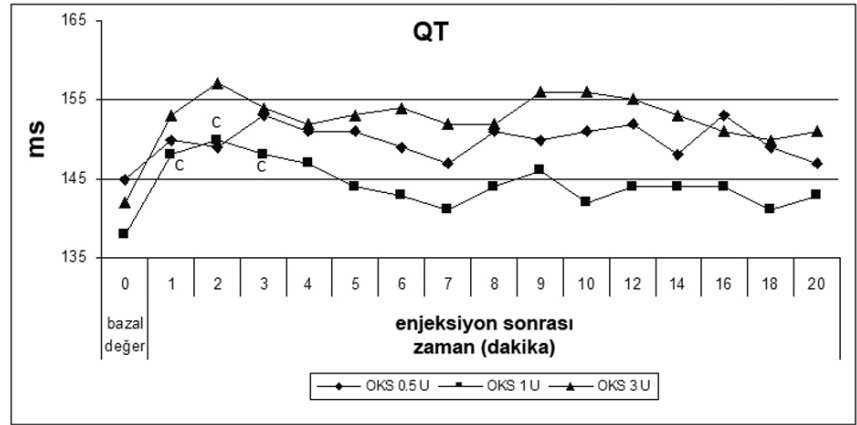


Şekil 3. Oksitosin ve Metil ergonovinin birlikte uygulandığı gruplara ait enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki kalp atım sayılarındaki değişimlerin gösterilmesi (c P<0.001)

Fig 3. The heart rates changes in groups before and after oxytocin plus methyl ergonovine injection (c P < 0.001)

Şekil 4. Oksitosin uygulanan gruplara ait enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki QT sürelerindeki değişimlerin gösterilmesi (c P<0.001)

Fig 4. The QT durations changes in groups before and after oxytocin injection (c P<0.001)



Şekil 5. Oksitosin uygulanan gruplara ait enjeksiyon öncesi ve sonrasındaki QTc sürelerindeki değişimlerin gösterilmesi (b P<0.001)

Fig 5. The QTc durations changes in groups before and after oxytocin injection (b P<0.001)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Uterus atonisine bağlı primer postpartum kanamalar anne ölümlerine neden olmaktadır ¹. Bu kanamalara karşı kullanılan profilaktik yöntemlerden bir tanesi de doğumun 3. döneminde kanamayı azaltmak amacı ile uterotonik ajanların kullanılmasıdır ¹¹. İdeal bir uterotonik ajanın güçlü ve uzun süreli uterus kontraksiyonunu sağlarken en az yan etkilere sahip olması istenmektedir. Bu amaçla OKS ve ME yalnız başlarına yaygın bir kullanım alanına sahipken son yıllarda OKS'nin hızlı ve ME'nin daha uzun süreli etkilerinden

birlikte faydalanmak amacı ile her ikisini içeren preparatlar da piyasaya sürülmüştür ⁹. Ancak OKS ve ME'nin kardiyovasküler sistem üzerine olan yan etkileri de bulunmaktadır ve hekimler tarafından bu etkiler dikkate alınmalıdır.

Bu iki ilaçtan özellikle OKS'in kardiyovasküler sistem üzerine olan etkileri son yıllarda araştırma konusu olmuştur. Köpeklerde OKS'in negatif inotropik and kronotropik etkiler gösterdiği ¹² yine kalpte bradikardi yaptığı ve bu mekanizmanın cGMP ile ilişkisi olduğu bilinmektedir ¹³. Bunun yanı sıra Uzun ve ark.⁸'nin

yaptığı bir çalışmada da OKS verilen dişi ve erkek tavşanlarda 2. dakikadan itibaren anlamlı bir bradikardi tablosuyla karşılaşıldığı bildirilmiştir. Bu çalışmada de elde edilen bulgular yukarıdaki verilere uyum göstermekle birlikte OKS enjeksiyonu sonrası 20-30 saniyelerde alınan EKG kayıtlarında belirlenen güçlü bradikardi tablosu ilk defa belirlenmiştir (*Şekil 1B*). Kalp atım sayılarında bu derece bir azalma insan ve hayvanlarda bugüne kadar rapor edilmemiştir. Bu azalmanın OKS uygulanan tavşanlarda görüldüğü düzeyde insan ve hayvanlarda ortaya çıkabileceğinin araştırılması gerekmektedir. Çünkü KA'larındaki bu düzeydeki bir azalma hayati tehlikeye neden olabilir. Bunun yanında KA'larındaki bu azalmanın tüm tavşanlarda ortaya çıkmadığı ve enjeksiyon sonrası 1. dakikada sürdürülebilir bir bradikardi tablosuna dönüştüğü görüldüğünden tehlikeli sayılabilecek sürenin 1 dakikalık dönem olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır.

Metil ergonovinin de kardiyovasküler etkileri araştırılmış olup etkileri konusunda farklı bildirimler bulunmaktadır. ME'nin hem bradikardi hem de taşikardi yapabileceği ve hipertansiyona yol açabileceği bildirilmektedir¹⁴. Bu yan etkilerinden dolayı ME'nin astım, hipertansiyon ve kalp hastalığı olan kadınlarda kontrandike olabileceği de belirtilmektedir⁹. İbrahim ve ark.¹⁵, kas içi ME uyguladıkları bir kadında uygulama sonrası 1. satte bir bradikardi tablosu belirlediklerini bildirmişlerdir. Tavşanlar üzerinde yürütülen bu çalışmada ise ME'nin yalnız başına uygulandığı grupta KA'da anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir. Yukarıda da belirtildiği gibi ME'nin etkileri konusunda çelişkili bildirimler bulunmaktadır ve KA üzerine olan etkilerinin daha fazla araştırma ile desteklenmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır.

Metil ergonovin ve OKS'nin birlikte uygulandığı gruplarda meydana gelen bradikardi tablosunun OKS'in yalnız başına uygulanan gruplardaki kadar güçlü ve uzun süreli olmadığı göze çarpmaktadır. Her iki ajan uterotonik etkileri yönünden birbirinin etkilerini tamamlamak üzere kullanılmaktadırlar. Kalp atım sayıları üzerine olan etkilerine bakıldığında ise bu iki ajanın kalbe özgü etkileri yönünden birbirlerini tamamlamak yerine her ikisinin de kendine ait özelliklerini ayrı ayrı ortaya çıkardığı söylenebilir.

QT ve QTc süreleri açısından veriler değerlendirildiğinde KA'larına göre daha az değişikliklerin olduğu göze çarpmaktadır. İstatistiksel olarak anlamlı bir uzama sadece 1 U OKS uygulanan grupta 1. dakikada

ortaya çıkmıştır. Buna rağmen OKS ve OKS+ME gruplarının tümünde 2-3 dakika devam eden ve istatistiksel olarak önem taşımayan QT-QTc uzamaları belirlenmiştir. QT uzamalarının TDP tipi ventriküler aritmileri tetikleyebileceği ve kardiyak ölümlere neden olabileceği belirtilmektedir. Tavşanlarda gözlemlenen bu kısa süreli QT uzamalarının klinik olarak tehlikeli boyutlarda olduğunu söyleyemeyiz ancak kan elektrolit düzeylerinin¹⁶ ve nonkardiyak diğer ilaçların varlığının da⁵ QT süresini etkileyebileceği bilindiğinden OKS kullanımlarında bu verilerin dikkate alınması gerektiği önerilebilir. Kardiyak birçok yan etkisi bildirilmesine rağmen ME'nin QT süresi üzerine etkileri yönünden OKS'e göre daha güvenli olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak, OKS uygulamaları sonrası ortaya çıkan kısa süreli ve güçlü bradikardi tablosu ile QT uzamalarının insanlar üzerinde de araştırılması ve olası sonuçların hekimler tarafından dikkate alınmasının faydalı olacağı, ayrıca KA ve QT süresi üzerine olan etkileri yönünden ME'nin OKS'e göre daha güvenli olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Dildy GA:** Postpartum hemorrhage: New management option. *Clin Obstet Gynecol*, 45 (2): 330-344, 2002.
- Arnold CE, Payne M, Thompson JA, Slovis NM, Bain FT:** Periparturient hemorrhage in mares: 73 cases (1998-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 232 (9): 1345-1351, 2008.
- Smith FO:** Postpartum diseases. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract*, 16 (3): 521-524, 1986.
- De Groot AN, van Dongen PW, Vree TB, Hekster YA, van Roosmalen J:** Ergot alkaloids. Current status and review of clinical pharmacology and therapeutic use compared with other oxytocics in obstetrics and gynaecology. *Drugs*, 56 (4): 523-535, 1998.
- Yap YG, Camm AJ:** Drug induced QT prolongation and torsades de pointes. *Heart*, 89 (11): 1363-1372, 2003.
- Why Mothers Die 1997-1999.** Confidential enquiries into maternal deaths in United Kingdom. London, RCOG Pres. URL: <http://www.cemach.org.uk>.
- Charbit B, Funck-Brentano C, Samain E, Jannier-Guillou V, Albaladejo P, Marty J:** QT interval prolongation after oxytocin bolus during surgical induced abortion. *Clin Pharmacol Ther*, 76 (4): 359-364, 2004.
- Uzun M, Yapar K, Uzlu E, Çitil H, Erdoğan HM:** QT interval prolongation and decreased heart rates after intravenous bolus oxytocin injection in male and female conscious rabbits. *Gen Physiol Biophys*, 26 (3): 168-172, 2007.
- Leung SW, Ng PS, Wong WY, Cheung TH:** A randomised trial of carbetocin versus syntometrine in the management of the third stage of labour, *BJOG*, 113 (12): 1459-1464, 2006.

- 10. Fridericia LS:** Die Systolendauer im Elektrokardiogramm bei normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med Scand*, 53, 469-80, 1920.
- 11. Mousa HA, Walkinshaw S:** Major postpartum haemorrhage. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 13 (6): 595-603, 2001.
- 12. Mukaddam-Daher S, Yin YL, Roy J, Gutkowska J, Cardinal R:** Negative inotropic and chronotropic effects of oxytocin. *Hypertension*, 38 (2): 292-296, 2001.
- 13. Gutkowska J, Jankowski M, Lambert C, Mukaddam-Daher S, Zingg HH, McCann SM:** Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. *Proc Nat Acad Sci USA*, 94 (21): 11704-11709, 1997.
- 14. Tsui BC, Stewart B, Fitzmaurice A, Williams R:** Cardiac arrest and myocardial infarction induced by postpartum intravenous ergonovine administration, *Anesthesiology*, 94, 363-364, 2001.
- 15. Ibrahim SM, Mustafa E, Louon A:** Postpartum severe sinus bradycardia following methylergonovine administration. *J Int Med Res*, 36 (5): 1129-1133, 2008.
- 16. Meenagh C, Mulholland C, Ryan MF:** Magnesium homeostasis and antipsychotic-induced QTc prolongation. *J Psychopharmacol*, 18 (3): 438-439, 2004.