

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

**RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE  
İNTRATEKAL ROPİVAKAİNİN ANALJEZİK  
ETKİLERİNE İNTRATEKAL MİDAZOLAMIN  
ETKİSİ**

**DR. HACİ BALKAYA**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2007**

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

**RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE  
İNTRATEKAL ROPİVAKAİNİN ANALJEZİK  
ETKİLERİNE İNTRATEKAL MİDAZOLAMIN  
ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. HACİ BALKAYA**

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Emel Sağıroğlu

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
TABLO LİSTESİ .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ .....	iii
RESİM LİSTESİ .....	iv
GRAFİK LİSTESİ .....	v
KISALTMALAR .....	vi
ÖZET .....	viii
SUMMARY .....	ix
GİRİŞ .....	1
AMAÇ .....	2
GENEL BİLGİLER .....	3
Ağrı .....	3
Ağrının Tanımı .....	3
Ağrı Sınıflamaları .....	4
Ağrı Mekanizmaları .....	5
Periferik Mekanizmalar .....	5
Santral Mekanizmalar .....	5
Ağrının Yönetimi .....	7
Spinal Analjezi .....	8
İntratekal ve Epidural Yolun Değerlendirilmesi .....	8
Spinal Uygulamalar İçin Kontrendikasyonlar .....	9
Spinal Analjezikler .....	9
Ropivakain .....	13
Midazolam .....	15
Spinal Olarak Uygulanılan İlaçların Nörotoksisitesi .....	17
Ratlarda Ağrı Ölçüm YöntemleriYöntemleri .....	18
Tail-Flick Testi .....	19
Ratlarda Motor Koordinasyon / Sedasyon Yöntemleri .....	21
Rotarod Testi .....	21
Ratlarda Vertebral Kolon, Spinal Kord ve BOS .....	22

GEREÇ VE YÖNTEM .....	26
Denekler .....	26
Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri .....	26
Hazırlık .....	27
Kateterin Hazırlanması .....	27
İlaçların Hazırlanması .....	27
Deneklerin Hazırlanması .....	27
Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları .....	30
Tail-Flick ve Rotarod Testi .....	30
Histopatolojik Değerlendirme .....	32
İstatiksel Değerlendirme .....	34
BULGULAR .....	35
Vücut Ağırlıkları .....	35
Tail-Flick Testi .....	35
Rotarod Testi .....	39
Histopatolojik Bulgular .....	42
TARTIŞMA .....	46
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54
Ek 1: ETİK KURUL İZİN BELGESİ.....	61

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hekimlik sanatının ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Zahide Elar'a, Sayın Prof. Dr. Emel Sağıroğlu'na, Sayın Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e,

Tez araştırmamı destekleyen, katkı ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Emel Sağıroğlu'na,

Tez araştırmamın yapımı ve yazımı sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr.Necati Gökmen'e,

Tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Necati Gökmen, Doç. Dr. Semih Küçükgüçlü, Prof. Dr. Osman Yılmaz, Yard. Doç. Dr. Alper Bağrıyanık, Arş. Gör. Efsun Kolatan, Dr.Ertuğrul Öğün, Dr. Burak Küçükebe, Naropin konusunda bana destek olan Yard. Doç. Dr. Aydın Taşdöğen'e,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, eğitimime katkıda bulunan bölümümüz tüm öğretim üyeleri ve uzmanlarına,

Asistanlık döneminin heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız başta, Can, Ömer, Ertuğrul, Selen, Remzi ve Ulaş Pınar olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Anestezi teknikeri arkadaşlarıma, ameliyathane, yoğun bakım, derlenme ünitesi, ağrı ünitesi, gündüz hastanesi hemşire ve personeli ile bölüm sekreterlerine ve tanıma fırsatı bulduğum tüm hastane çalışanlarına,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini ve sabrını esirgemeyen aileme,

Varlıklarını hiç bir şeye değişemeyeceğim, hayatımı güzelleştiren ve anlam katan eşim Sezer Balkaya ve küçük kızım Pınar Balkaya'ya

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr.Haci Balkaya

## **TABLO LİSTESİ**

<b>Tablo No</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>1</b>	Ratta ve insanlarda BOS'un biyokimyasal özellikleri	25
<b>2</b>	Histopatolojik skorlama	34
<b>3</b>	Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları	35
<b>4</b>	Grupların tail-flick ortalama değerleri (saniye)	37
<b>5</b>	Grupların rotarod ortalama değerleri (saniye)	41
<b>6</b>	Grupların histopatolojik skorlarının ortalama değerleri	42
<b>7</b>	İncelenen kesitlerdeki histopatolojik skorlamalar	45

## **SEKİL LİSTESİ**

<b>Şekil No</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>1</b>	Ropivakain (S- (-) -1 -propil -2', 6'-pipekoloksilidid hidroklorid monohidrat)	13
<b>2</b>	Midazolam	15
<b>3</b>	Rattın iskelet sistemi	22
<b>4</b>	Rattın spinal kordunun servikal ve lumbar genişlemeleri	23
<b>5</b>	Rattın spinal kord kesitindeki yapılar	24
<b>6</b>	Rattın dorsal boyun kasları; derin boyun kasları, yüzeysel boyun kasları	28

## **RESİM LİSTESİ**

<b>Resim No</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>1</b>	Tail-flick cihazı	30
<b>2</b>	Rotarod cihazı	31
<b>3</b>	Ratın perfüze edilmesi	32
<b>4</b>	Ratın spinal kordunun çıkarılması	33
<b>5</b>	Grup S'deki 3. deneğin lumbal kordundan alınan kesit	43
<b>6</b>	Grup M'deki 3. deneğin torakal kordundan alınan kesit	44
<b>7</b>	Grup MR'daki 2. deneğin alt servikal kordundan alınan kesit	44



## **GRAFİK LİSTESİ**

<b>Grafik No</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>1</b>	Tail-flick testi ortalama değerleri	38
<b>2</b>	Rotarod testi ortalama değerleri	42

## **KISALTMALAR**

DSÖ .....	: Dünya Sağlık Örgütü
GABA .....	: $\gamma$ -aminobutirik asid
K <sup>+</sup> .....	: Potasyum
PG .....	: Prostaglandin
SP .....	: Supstans P
WDR .....	: Wide dynamic range
Na <sup>+</sup> .....	: Sodyum
Ca <sup>+2</sup> .....	: Kalsiyum
Cl <sup>-</sup> .....	: Klor
NMDA .....	: N-Metil-D-Aspartat
$\mu$ .....	: Mü
$\lambda$ .....	: Delta
$\kappa$ .....	: Kappa
$\delta$ .....	: Sigma
$\alpha$ .....	: Alfa
NK .....	: Nörokinin
CGRP .....	: Kalsitonin geniyle ilişkili peptid
$\beta$ .....	: Beta
BOS .....	: Beyin Omurilik Sıvısı
cm .....	: Santimetre
$\mu$ L .....	: Mikrolitre
$\mu$ g .....	: Mikrogram
G .....	: Gauge
mg .....	: Miligram
kg .....	: Kilogram
mL .....	: Mililitre
SF .....	: Serum Fizyolojik
$\mu$ m .....	: Mikrometre
PE .....	: Polietilen
dk .....	: Dakika
sn .....	: Saniye

g .....: Gram

ltd ..... : Limited

## **ÖZET**

### **RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE İNTRATEKAL ROPİVAKAİNİN ANALJEZİK ETKİLERİNE İNTRATEKAL MİDAZOLAMIN ETKİSİ**

**Dr. Hacı Balkaya, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İzmir/Türkiye.**

**Amaç:** Bu çalışmada, ratlarda intratekal verilen ropivakaine, midazolam eklenmesinin analjezik ve spinal korddaki histopatolojik etkisinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya, 27 adet rat alındı. Anestezi altında deneklere spinal kateter takıldı ve tespit edildi. Denekler randomize olarak 5 gruba ayrıldı.

**Grup Sham (n=3):** Tüm cerrahi işlemler yapıldı. Ancak kateter takılmadı

**.Grup S (n=6):** Deneklere spinal kateterden 10 µL %0.9 serum fizyolojik solüsyonu verildi.

**Grup R (n=6):** Deneklere spinal kateterden 10 µL 50 µg ropivakain (5 mg/mL) verildi.

**Grup M (n=6):** Deneklere spinal kateterden 10 µL 20 µg'lık midazolam verildi.

**Grup MR (n=6):** Deneklere spinal kateterden 10 µL midazolam, ropivakain karışımı (20 µg midazolam, 50 µg ropivakain olacak şekilde) verildi.

Kateter takılan tüm gruplara ilaç verildikten sonra 10 µL serum fizyolojik ile yıkandı.

İntratekal ilaç uygulamadan önce (0.dk) ve uygulamadan sonraki 10, 20, 30, 45, 60 ve 90. dk ratlara tail-flick testi ayrıca 0, 10, 20, 30, 45, 60 ve 90. dk rotarod testi uygulandı. Ratların spinal kordundan alınan kesitler histopatolojik olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Tail-flick testi sonucunda; Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR'da tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı ( $p<0.05$ ). Rotarod testi sonucunda Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Histopatolojik olarak gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). **Sonuç:** İntratekal yolla uygulanan ropivakainin analjezik etkinliğini, midazolamın arttırdığı ve histopatolojik olarak nörotoksisite oluşturmadığı saptandı.

**Anahtar kelimeler:** İntratekal, ropivakain, midazolam, analjezi

## **SUMMARY**

### **THE INFLUENCE OF INTRATHECALLY ADMINISTERED MIDAZOLAM ON ANALGESIC EFFECTS OF INTRATHECALLY ADMINISTERED ROPIVACAINE ON THERMAL INDUCED PAIN MODEL IN RATS**

**Dr. Haci Balkaya, Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Izmir/Turkey.**

#### **Objective:**

This study was aimed to investigate whether the addition of midazolam to intrathecal administration of ropivacaine in rats effects analgesic activity and makes histopathological effect to spinal cord.

#### **Methods:**

27 rats were included in the study. Spinal catheter was inserted and affixed to subjects under anesthesia. Subjects were randomised into 5 groups.

**Group Sham (n= 3):** All surgical processes were done except catheter insertion.

**Group S ( n= 6 ) :** 10 µL of % 0,9 saline was administered through the spinal catheters of subjects.

**Group R ( n= 6 ) :** 10 µL ropivacaine including 50 µg ( 5 mg/ mL) was administered through the spinal catheters of subjects.

**Group M ( n=6 ) :** 10 µL midazolam including 20 µg was administered through the spinal catheters of subjects.

**Group MR ( n= 6 ) :** 10 µL of midazolam and ropivacaine mixture (including 20 µg midazolam and 50 µg ropivacaine) was administered through the spinal catheters of subjects.

The catheters were flushed with 10  $\mu$ L of saline was administration after injection of the study drugs medicines in all catheter inserted groups. Tail-flick test and rotarod test were performed the intratecal administration of medicine (0. minute) and at the 10., 20., 30., 45., 60., and 90. minutes after the administration of study drugs. The cross-sections obtained from the spinal cord of rats were histopathologically evaluated.

### **Findings:**

The tail-flick test's results showed that when group S with group R, group M and group MR were compared; the mean values in group R, group M and group MR were significantly high ( $p < 0.05$ ). In the comparison of group R with group M and group MR, the tail-flick test mean values of group MR were found significantly high ( $p < 0.05$ ). The rotarod test's results showed that when group S was compared with group M and group MR; the mean rotarod values of group M and group MR were found significantly low ( $p < 0.05$ ). No statistical histopathologic significance was found between the groups ( $p > 0.05$ ).

### **Conclusion:**

The analgesic property of ropivacaine when administered intrathecally was augmented by intrathecally administered midazolam without producing any histopathological neurotoxicity.

**Keywords:** Intrathecal, ropivacaine, midazolam, analgesia.

## GİRİŞ

İntratekal ropivakain 1990'ların başında ilk defa uygulanmaya başlanmıştır ve spinal ajan olarak güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir (1). McDonald ve ark. (2) ropivakainin spinal anestezi uygulamasında bupivakainin yaklaşık 0.5 katı kadar etkili olduğunu, her iki ilacın da duysal blokta benzer başlangıç ve etki düzeyi oluşturmasına rağmen ropivakainin kısa süren bir etki ve daha hızlı gerileyen motor blok oluşturduğunu bulmuşlardır. Gautrier ve ark. (3) ise ropivakainin spinal anestezi uygulamasında hem duysal blok süresini, hem de motor blok derlenme süresini daha kısa bulmuşlardır. Ayrıca ropivakain kullanılan hastalarda idrar çıkışı ve mobilizasyonun, bupivakain kullanılan hastalara göre daha çabuk gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ropivakain, belirgin diferansiyel blok oluşturmasından dolayı bupivakaine göre daha hızlı gerileyen motor blok yapar (4). Polley ve ark. (5) gebelerde epidural analjezi amaçlı ropivakain kullandıkları çalışmalarında bupivakainin 0.6 katı kadar etkili olduğunu bulmuşlardır.

Tüm benzodiazepinlerin hipnotik, sedatif, anksiyolitik, amnezik, antikonvülzan ve santral etkili kas gevşemesi yapma özellikleri vardır. Midazolam, 1976'da Fryer ve Walser tarafından sentezlenip klinik kullanıma giren suda eriyen kısa etkili bir benzodiazepindir (6). Klinikte premedikasyonda, bölgesel anesteziye işlemden önce ve süresince sedasyon, anestezi indüksiyonu ve idamesi, yoğun bakımda ve postoperatif dönemde uzun süreli sedasyon, hasta kontrollü sedasyon, diş hekimliğinde, obstetrik, endoskopi, kardioversiyon ve kardiyak kateterizasyon, radyodiagnostik girişimlerde sedasyon ve uyku sağlamak amaçlı kullanılmaktadır (7).

Son çalışmalarda midazolamın analjezik etkisinde olduğu bildirilmektedir (8-13). Midazolam spinal kordda benzodiazepin/  $\gamma$ -aminobutirik asid (GABA)<sub>A</sub> reseptör kompleksini etkileyerek analjezi oluşturur (8). İntratekal midazolamın GABA reseptörlerini etkileyerek geri dönüşümlü segmental antinosisseptif etki gösterdiği saptanmıştır (8-10).

*Pubmed'de* (2005 Aralık tarihine kadar) yaptığımız literatür taramasında, deneysel ağrı modelinde ve klinik uygulamada intratekal yolla uygulanan ropivakain ile midazolam kombinasyonunun, analjezik ve histopatolojik etkisini araştıran çalışma bulunmadığını saptadık.

## **AMAC**

Bu çalışmada, ratlarda intratekal verilen ropivakaine, midazolam eklenmesinin analjezik ve spinal korddaki histopatolojik etkisinin araştırılması amaçlandı.



## **GENEL BİLGİLER**

### **AĞRI**

Ağrı Latince “poena” (ceza, intikam, işkence) sözcüğünden gelen, tanımlanması oldukça güç bir kavramdır (15). Hastayı hekime getiren bulguların başında gelir. Akut ağrı, ani doku zararlanmasının bir göstergesi olması nedeniyle bireyler için koruyucu bir bulgudur. Ancak ısrarlı kronik ağrılar, depresyon ve anksiyeteye neden olabilir, sosyal ilişkileri bozabilir (16).

Bu nedenlerle, ağrı özellikle son yıllarda üzerinde gittikçe fazla durulan bir konu haline gelmiştir. Ağrının multidisipliner özelliği, birçok bilim dalından hekimlerin ağrı konusuna odaklanmasına neden olmuştur.

### **AĞRININ TANIMI**

Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (*International Association for the Study of Pain-IASP*)’ne göre ağrı, var olan veya olası doku hasarına eşlik eden veya bu hasar ile tanımlanabilen, hoşla gitmeyen duysal ve emosyonel deneyimdir. Nörofizyolojik, biyokimyasal, psikolojik, etnokültürel, dinsel, bilişsel ve çevresel etkenlerin ortaya çıkardığı çok boyutlu bir bulgudur (17).

## AĞRI SINIFLAMALARI

Öznel bir bulgu olan ağrıyı sınıflandırmak güçtür. Sınıflama sistemlerinde en önemli nokta, sınıfları düzenlerken kullanılan bilgilerin niteliği ve boyutudur. Bildirilen sınıflamalar anlaşılır olmakla birlikte sürekli ve sabit değildir. En sık kullanılan sınıflama aşağıda tanımlanmıştır (18);

### Nörofizyolojik mekanizmaya göre ağrı

- Nosiseptif ağrı
  - Somatik
  - Visseral
- Nöropatik ağrı
  - Merkezi
  - Periferik
- Psikojenik ağrı

### Süreye göre ağrı

- Akut ağrı
- Kronik ağrı

### Etiyolojiye göre ağrı

- Kanser ağrısı
- Postherpetik nevralji
- Orak hücre anemisine bağlı ağrı
- Osteojenik ağrı

### Bölgesel Ağrı

- Baş ağrısı,
- Yüz ağrısı,
- Bel ağrısı,
- Pelvik ağrı gibi.

## AĞRI MEKANİZMALARI

### Periferik Mekanizmalar

Primer afferent nosiseptörler nosiseptif süreçlerin başlangıç noktasıdır. Bunlar mekanik, termal ve kimyasal uyarılara yanıt veren sinir uçlarıdır. Nosiseptörün yanıt özelliklerine bağlı olarak spinal korda doğru bir yayılım meydana gelir. Birçok ağrı tipi primer afferent nöronların uyarılması ile başlar. Ancak nosiseptör aktivasyonu sürecinde başka etkenler de olaya katkıda bulunur. Doku hasarlanması sonrası hasarlanan hücrelerden ve dolaşımdaki trombosit ve mast hücrelerinden “Allojenik maddeler” olarak adlandırılan maddeler salınır. Potasyum ( $K^+$ ), serotonin, bradikinin, histamin, prostaglandinler (PG) ve supstans P (SP) nosiseptörleri duyarlı kılan allojenik maddelerdir (16). Bu maddeler nosiseptörleri uyararak periferik sentizasyona neden olurlar ve böylece nosiseptör aktivasyonu sürecine katkıda bulunurlar (18).

Afferent liflerin duysal uçları fizyolojik koşullarda yalnızca güçlü ve zararlı uyarılarla aktive olur. Beyin bu liflere gelen uyarıları ağrı olarak algılar. Ağrıyı etkili bir duysal sinyal haline getiren, periferdeki afferent uçların yüksek eşiğiyle bunların merkezdeki bağlantıları arasındaki dengedir (19).

### Santral Mekanizmalar

Nosiseptif bilgiyi taşıyan primer afferentler spinal kordun gri cevherinin arka boynuzunda sonlanır (1. nöron). Burada afferent lifler, bölgesel spinal nöronlar ve beyinden inen liflerin birleştiği karmaşık bir yapı vardır. Primer afferentlerin aksonları, arka boynuz nöronlarıyla bağlantı kurarlar (2. nöron). Nosiseptif-spesifik nöronlar ve *wide dynamic range* (WDR) nöronları olmak üzere iki tip arka boynuz nöronu vardır (18).

Arka boynuzdaki ağrı sürecinde çeşitli nörotransmitterler ve nöromodülatörler görev almaktadır. Özellikle glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler arka boynuzdaki ağrı iletiminde önemli rol oynamaktadır (20).

Nosiseptif transmisyon ya da modülasyonda yer alan diğer reseptörler ise; opioid, GABA, alfa ( $\alpha$ )-adrenerjik, muskarinik asetilkolin, serotonin ve adenosin reseptörleridir (20).

Arka boynuzdaki ikinci nöronlar ve ön boynuzdaki bazı nöronlar çeşitli yollarla supraspinal bölgelere ulaşır. Bu yollar spinotalamik, spinoretiküler, spinomezensefalik yollardır ve spinal kord içinde kontralateral ve anterolateral kadranda yer alırlar (20).

İkinci sıra nöronları spinal kord da yukarıya doğru çıkarak beyin sapından talamus ve kortekse kadar çeşitli supraspinal yapılara uzanırlar. Talamusta ikiye ayrılırlar; birincisi, ventrokaudal ve ventroposterior talamus çekirdeklerinde, ikincisi ise talamusun medial çekirdeklerinde sonlanır (20).

Korteksin ağrı algılamasındaki rolü tam olarak açıklanamamıştır. Pozitron emisyon tomografisiyle yapılan çeşitli çalışmalarda ağrılı uyarının sensoryel, motor, premotor, frontal, pariyetal, oksipital ve anterior singulat bölgelerini etkilediği gösterilmiştir. Pariyetal bölgenin ağrının değerlendirilmesinde, frontal bölgenin ise ağrıya karşı emosyonel cevapta etkili olduğu düşünülmektedir (21).

## AĞRININ YÖNETİMİ

Sürekli gelişen ağrı bilimi sayesinde edinilen yeni görüş ve anlayışlar analjeziklerle ilgili birçok geleneksel bilginin geride bırakılmasına neden olmuştur.

Analjeziklerin doğru uygulamalarını amaçlayan çalışmalar Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) bünyesinde 80'li yıllarda başlamış ve 1984 yılında kanser ağrı tedavi programı kapsamında 'Analjezik Kullanım İlkeleri' yayınlanmıştır. Önceleri kronik ağrılı kanser hastaları için geliştirilen ve uygulanan bu kurallar, klinikte deneyimlerin artması ile diğer kronik ağrılı hastaların tedavisinde de uygulanmaya başlanmıştır (22).

Ağrı tedavisinde DSÖ'nün önerdiği kurallar şunlardır:

1-Analjezik seçimi, ağrının şiddetine göre basamak prensibi doğrultusunda yapılmalıdır. Basamak prensibine göre; analjezikler güçlerine göre gruplar halinde en düşük etkiliden, en yüksek etkililiye göre sıralanmışlardır.

2-Analjezik seçiminde ağrının nedeni ve niteliği dikkate alınmalıdır.

3-Analjezik kullanımında, öncelikle oral yol tercih edilmelidir. Oral yol uygulanamıyorsa ve seçilen analjeziğin uygun preparatı mevcut ise invazif olmayan diğer uygulama yollarına başvurulabilir (Rektal, transdermal, transmukozal, sublingual, intranazal gibi). İnvaziv olmayan uygulama yolları mümkün olmadığında paranteral veya hastanın ağrısı lokalize edilebiliyorsa spinal ilaç uygulamaları (intratekal, epidural) düşünülmelidir.

4-Analjezik doz kişiye özgü olarak belirlenmelidir.

5-Analjezikler düzenli zaman aralıkları ile ağrı başlamadan alınmalıdır.

6-Yan etki profilaksisi ve tedavisi yapılmalıdır.

7-Antidepresan, antikonvülzan, nöroleptik, kortikosteroid ve anksiyolitik gibi adjuvan ilaçlar kullanılmalıdır (22).

## **SPİNAL ANALJEZİ**

Genel anestezinin dolaşım ve solunum sistemini deprese etmesi, araştırmacıları, ağrıyı önlemede infiltrasyon anestezisi ve bölgesel metodlar gibi diğer yaklaşımların geliştirilmesine yöneltmiştir. 1898’de Dr. August Bier, major cerrahilerde ağrıyı önlemede ‘‘Spinal Kordun Kokainizasyonu’’ olarak adlandırdığı tekniği tanımlamıştır (23). 1898’den günümüze kadar anestezi hekimleri, gerek cerrahi süreçte, gerekse ağrı tedavilerinde birçok değişik tekniği ve ilacı denemeye devam etmişlerdir (23).

Opioidlerin spinal olarak uygulanması ile ağrı kontrolünde yeni bir dönem başlamıştır (24). Başlangıçta yalnız kanser ağrıları için kullanılan bu yöntem daha sonra diğer tedavi yöntemlerine cevap vermeyen kanser dışı ağrılarda da kullanılır hale gelmiştir. Kanser dışı ağrılarda spinal yolun seçim kriterleri ise;

- 1- Bütün tedavilerin denenmiş olması
- 2- Dayanılmaz yan etkilerin olması
- 3- Psikiyatrik bozukluk olmaması
- 4- Deneme döneminde olumlu yanıt alınmasıdır (25)

## **İNTRATEKAL VE EPİDURAL YOLUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Kronik spinal analjezide çoğunlukla tercih edilen yol epidural yaklaşımdır. Ancak epidural uygulamaların çeşitli dezavantajlarının ortaya çıkması intratekal yolun daha fazla tercih edilmesine neden olmuştur (25).

Epidural yolun avantajları; kateterin ağrının kaynağına uygun dermatoma yerleştirilebilme olanağının olması, beyin omurilik sıvısı (BOS) kaçağının olmaması, duranın delinmesine bağlı baş ağrısı olmaması olarak sıralanabilir. Ancak epidural yolun dezavantajları da vardır. Epidural bölgede zaman içerisinde gelişen fibrozis ve inflamasyon bir süre sonra enjeksiyonu imkansız hale getirebilir ve enjeksiyon sırasında yanma tarzında şiddetli bir ağrıya neden olabilir (25).

İntratekal yolun avantajları ise kateter tıkanma riskinin az olması, fibrozis ya da enjeksiyon sırasında yanma riskinin olmaması, daha düşük dozda ilaç kullanımı sayılabilir. İdrar retansiyonu, bulantı ve uygulamanın başlangıcında görülebilen baş ağrısı intratekal uygulamaların dezavantajlarındandır. Ayrıca uzun süre uygulanan kateter çıkarıldığında subaraknoid fistül oluşabilir. Menenjit riski varsa da yüksek değildir [%0.5] (25).

## SPİNAL UYGULAMALAR İÇİN KONTRENDİKASYONLAR ( 25)

- a) Kanama bozuklukları
- b) Uygulama bölgesinde lokal enfeksiyon
- c) Metabolik bozukluklar
- d) Nörodejeneratif bozukluklar
- e) Davranış bozuklukları
- f) Psikiyatrik hastalıklar
- g) İlaç bağımlılıkları

## SPİNAL ANALJEZİKLER

Spinal analjezi için kullanılacak ilaçların aşağıdaki özellikleri taşıması gerekmektedir (25).

- a- 24 saat ya da daha uzun etkiye sahip olması
- b- Yan etkilerinin az olması
- c- Uzun süre kullanımda spinal kord üzerine toksik etki meydana getirmemesi
- d- Enjeksiyon sırasında ağrıya yol açmaması
- e- Kullanılan ilaç, verici sistemlerle uyumlu olmalı

Halen araştırılmakta olan ve ağrı iletimini engelleyen pek çok bileşik arka boynuzdaki fonksiyonlarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (26).

1. İyon kanallarıyla etkileşerek transmisyonu değiştiren ajanlar.
2. Nörotransmitter fonksiyonlarını etkileyen ajanlar.
3. Nöromodülatör fonksiyonlarını etkileyen ajanlar
4. Transsinaptik sinyal sistemlerinde etkili olan ajanlar.

### **1. İyon kanallarıyla etkileşerek arka boynuzda nonspesifik olarak transmisyonu değiştiren ajanlar**

Biyoelektrik sinyaller, hücre membranından özel kanallarla pekçok iyonun geçişini sağlar. Bunlardan en önemlileri, sodyum ( $\text{Na}^+$ ), kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ), ( $\text{K}^+$ ) ve klor ( $\text{Cl}^-$ ) dur.

**Sodyum kanalları:**  $\text{Na}^+$  kanallarının aktivasyonu, sinir membranının depolarizasyonuna neden olur ve sinir sistemi boyunca nöronal impulsların iletiminde önemli

bir yere sahiptir. Lokal anestezipler  $\text{Na}^+$  kanallarının aktivasyonunu engelleyerek nöronal iletiyi engeller (27).

Lokal anesteziplerin spinal yoldan infuzyonu postoperatif ağrı tedavisinde gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Kronik ağrı tedavisinde de kullanılabilmesine rağmen, motor blok ve duyuusal blok yapabilmesi uzun süreli kullanımlarını sınırlandırmaktadır (26).

**Kalsiyum kanalları:**  $\text{Ca}^{+2}$  iyonunun hücre membranlarından akımı, nöronal eksitabilitenin bazal düzeyinin devamı için gereklidir (26). Duyusal nöronlarda L, N, T ve P tipi olmak üzere 4 tip kalsiyum kanalı saptanmıştır (28,29).  $\text{Ca}^{+2}$  kanal antagonistleri, kronik ağrının spinal yolla tedavisinde yeni bir alternatif olarak görünmekle birlikte, kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır (30).

## **2. Nörotransmitter fonksiyonlarını etkileyen ajanlar**

Nörotransmitterler, nöronlar arasında sinaptik bileşelerde transmisyonu sağlayan kimyasal maddelerdir. Pekçok farmakolojik ajan ya reseptör bloğu ya da nörotransmitter etkisini taklit yoluyla etki etmektedir. Nörotransmitterler eksitator aminoasitler, inhibitör aminoasitler, opioidler ve monoaminler olarak sınıflandırılmaktadır (26).

**Eksitator aminoasitler:** Somatosensoryel sistemin ana eksitator nörotransmitterleri glutamat ve aspartattır. Bunlar periferik sinirlerde, arka kök ganglionlarında ve arka boynuz hücrelerinde bulunurlar (31). N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörleri eksitator aminoasit reseptörlerinden biridir. NMDA reseptör antagonisti olan ketaminin intratekal yolla analjezi sağladığı birçok çalışmada gösterilmiştir (32).

**Inhibitör aminoasitler:** GABA ve glisin, arka boynuzda bulunan inhibitör transmitterlerdir. GABA reseptörlerinin  $\text{GABA}_A$ ,  $\text{GABA}_B$ , ve  $\text{GABA}_C$  olmak üzere üç tipi vardır (26).  $\text{GABA}_A$  agonisti olan midazolamın intratekal yolla uygulanmasının analjezik etkinliği gösterilmiştir (33). Selektif bir  $\text{GABA}_B$  reseptör agonisti olan Baklofen ise *cerebral palsy* ve multipl sklerozda spazm nedeniyle oluşan ağrının tedavisinde kabul görmüştür (34).



**Opioidler:** Opioid analjezikler, mü ( $\mu$ ), delta ( $\lambda$ ), kappa ( $\kappa$ ) ve sigma ( $\delta$ ) olarak adlandırılan dört endojen opioid reseptörü üzerinden etki ederler. Spinal yolla opioid uygulanması, insanlarda ağrı tedavisi için altın standart haline gelmiştir. Sistemik uygulamalar ile karşılaştırıldığında spinal uygulamalar sonrası gözlenen yan etkiler daha az olmakta birlikte seyrek değildir (35).

### **Monoaminler**

#### **$\alpha_2$ adrenerjik agonistler:**

Günümüzde bir  $\alpha_2$  agonisti olan klonidinin ağrı tedavisinde spinal yolla kullanımı onaylanmıştır (36). Klonidin analjezik olarak umut verici olmakla birlikte, hipotansiyon ve bradikardi oluşturması kullanımını sınırlamaktadır (37).

#### **Asetilkolin:**

Asetilkolinesteraz spinal kord arka boynuzunda birçok sinir ucunda bulunmaktadır. İnsanlarda bir antikolinesteraz inhibitörü olan neostigminin spinal yolla uygulanması ile analjezik etki elde edildiği gösterilmiştir (38).

#### **Pürinler (adenozin):**

Deneysel çalışmalarda analjezik etkinliği gösterilmiş olmasına rağmen, insanlarda adenozinle ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (26)

### **3. Nöromodülatör fonksiyonlarını etkileyen ajanlar**

Nöromodülatörler, nörotransmitterlerin etkisini düzenleyen maddelerdir. Kendilerine özgü membran reseptör bölgelerinde etkilidirler (26).

- Nörokininler (SP, NKA, NKB)
- Kalsitonin geniyle ilişkili peptid (CGRP)
- Somatostatin
- Prostaglandin (PG)'ler

**Nörokinin peptidleri ve CGRP'in** nosiseptif bilginin iletilmesinde etkili oldukları bilinmekle birlikte, antagonistlerinin analjezik etki oluşturduğuna ilişkin çalışma bulunmamaktadır (26).

**Somatostatin** spinal kord düzeyinde nosiseptif bilginin aktarılmasında rol almaktadır. Deneysel ve klinik çalışmalarda spinal yolla analjezi sağlanabildiği gösterilmiştir (39, 40).

**Prostaglandinler;** Doku hasarlanması, duysal nöronlarda nöropeptidlerin (glutamat, aspartat) artışına neden olur. Bu transmitterlerin hasarlanma sonrası afferent liflerin santral uçlarından da salınımlarının arttığı gösterilmiştir (41).

Glutamat ve aspartat salınımının NMDA ve SP reseptörlerini aktive ederek kalsiyum iyonunun hücre içine girişine neden olur. Spinal kordda hücre içi kalsiyum artışı araşidonik asit salınımı ve fosfolipaz A'nın aktivasyonuna yol açmaktadır. Fosfolipaz aktivasyonu sonucunda oluşan PG'ler spinal kordda birikerek ağrının artışına neden olmaktadır. Deneysel çalışmalarda PG'lerin doku hasarlanma sonrası sadece hasarlanan bölgede değil aynı zamanda spinal kordda da arttığı gösterilmiştir (42).

#### **4.Transsinaptik sinyalleri değiştiren ajanlar**

Bu ailenin iki üyesi olan nitrik oksit ve karbonmonoksit biyolojik olarak aktif gazlardır. Bu maddelerin duysal iletimdeki rolleri deneysel çalışmalarda halen araştırılmaktadır (26).

## ROPIVAKAİN



Şekil 1. Ropivakain (S- (-) -1 -propil -2', 6'-piperkoloksilidid hidroklorid monohidrat) (45)

### ROPIVAKAİNİN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Ropivakain, 1997'den beri kullanılan yeni bir aminoamid lokal anesteziktir (45). Molekül ağırlığı; 280 daltondur. pKa'sı; 8,1'dir (45-47). Partisyon katsayısı (lipid çözünürlüğü); 147'dir (45-47). %94'ü (80-90) proteine bağlanır (47). Karaciğerde metabolize olur ve % 1'i metabolize olmadan idrarla atılır. Klirensi; bupivakainden % 40 daha fazladır. Maksimum güvenlik dozu; 3,5 mg/kg olarak hesaplanmıştır (45).

### ROPIVAKAİNİN FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

Ropivakain; bupivakaininin, lipide çözünürlüğünün yarısı kadar çözünebilen pek çok fizikokimyasal özelliğini paylaşan, yeni, amid yapılı bir lokal anesteziktir (45,48-50). Potens, etki başlangıcı ve etki zamanı bupivakainle hemen hemen aynıdır, ropivakain biraz daha az motor blok oluşturur (48,49). Bupivakainden farklı olarak, piperidin halkasının tersiyer nitrojen atomunda bütil yerine propil grubu taşır ve tek enantiyomerden-S-stereizomeribarettir (48-50). Lipitte çözünürlüğünün daha az olması ve moleküler yapısı nedeniyle intravenöz verildiğinde, dolaşımdan daha hızlı uzaklaşacağından, daha az intrensek kardiyotoksik olacağı umulmuştur. Ancak mepivakain ve bupivakainin S- enantiyomerlerinin, R-enantiyomerlerinden daha yavaş total vücut klirens hızına sahip olmaları nedeniyle karaciğerden daha yavaş metabolize olduklarına dair kanıtlar vardır. Bununla birlikte ropivakain, bupivakaine göre %70 daha az ciddi kardiyak disritmiye neden olduğundan, daha geniş terapötik endekse sahiptir (48-50).

Ropivakainin oluşturduğu duysal ve motor blok süresi, doza bağlıdır. Duysal bloğunun süresi bupivakaine benzer iken, motor blok süresi daha kısadır. Ropivakain, A $\beta$  liflerinde bupivakainden daha az ileti bloğu oluştururken, A $\delta$  ve C liflerinde bupivakainden daha fazla

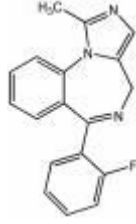
ileti bloğuna yol açar (47). En yaygın kullanımı; obstetrik analjezi ve postoperatif ağrı kontrolü içindir. Epidural ve brakial pleksus anestezisi için bupivakaine göre eř veya daha yüksek dozlarda, bupivakaine benzer başlama zamanı ve miktarında klinik olarak etkin duysal ve motor blok oluşturur (48, 49, 51).

## **ROPIVAKAİNİN SANTRAL ETKİLERİ**

Ropivainin bupivakaine göre myelin kılıfa geç penetrasyonun düşük lipid solubilitesinde olduğu farzedilir. Rat, fare ve köpeklerde yapılan çalışmalarda ekstradural ve spinal anestezide duysal blok süresi bupivakainle aynı ama motor blok süresi daha kısa bulunmuştur (43). Ropivakainin etkisi bupivakaine göre dşktir. Kallio ve arkadaşları, süre başına mg doz çalışmasında ropivakainin motor blok süresinin bupivakainin yarısı olduğunu, duysal blok süresinin ise üçte ikisi kadar olduğunu görmüşlerdir (78). Ropivakain daha az motor blok yaptığından, benzer konsantrasyonlarda diferansiyel blokda bupivakainden daha etkili olabileceği dikkate alınmalıdır (43).

Ropivakainin % 0.5, % 0.75 ve % 1'lik konsantrasyonları, epidural anestezi ile cerrahi anestezide başarılı bir şekilde kullanılmıştır. İzobarik ropivakainin % 0.5 ve % 0.75'lik konsantrasyonları, spinal anestezide nadir olarak kullanılmıştır ve intratekal kullanım için halen lisans almamıştır (43).

## MİDAZOLAM



Şekil 2. Midazolam (6)

### MİDAZOLAMIN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Midazolam, 1976'da Fryer ve Walser tarafından sentezlenen, klinikte kullanılan ilk suda çözünebilen kısa etkili bir benzodiazepindir. Midazolam in vivo diyazepam ve lorezepama göre en çok yağda çözünebilen ajandır. Ancak pH bağımlı çözünürlüğü nedeniyle tamponlu asidik ortamda (pH:3.5) formüle edildiğinde suda çözünür. Molekül ağırlığı 362, pK<sub>a</sub>'sı 6.2, proteinlere bağlanma oranı % 96-98 olan yüksek lipofilik ajandır (6).

### MİDAZOLAMIN FARMAKOKİNETİK ÖZELLİKLERİ

Midazolamın kas dokusundan emilimi hızlı ve tamdır. İntramuskuler enjeksiyondan sonra maksimum plazma konsantrasyonlarına 30 dakika içinde ulaşır. Biyoyararlanım %90'nın üzerindedir. Kararlı durumda hesaplanan dağılım hacmi 1.1-1.7 L/kg'dır (6).

Midazolam vücutta hızla ve tamamen metabolize edilir. Ana metaboliti  $\alpha$ -hidroksi midazolamdır. Karaciğer tarafından ekstrakte edilen doz oranı % 40-50 olarak tahmin edilmektedir. Eliminasyon yarı ömrü 1,5-2 saat, plazma klirensi ise dakikada 300-400 mL arasında değişmektedir. Eliminasyon kinetiği intravenöz infüzyon veya bolus enjeksiyon şeklinde uygulandığında farklılık göstermez. Eliminasyon yarı ömrü konjestif kalp yetmezliği, yaşlılarda, uzun süreli sedasyon için intravenöz infüzyon şeklinde uygulanan yoğun bakım hastalarında, renal yetmezlik ve hepatik işlev bozukluğu olan hastalarda uzayabilir. Glukronik asitle konjuge olur. Dozun % 60-70'i  $\alpha$ -hidroksi midazolam konjugatı halinde böbreklerden atılır (6).

## MİDAZOLAMIN SANTRAL ETKİLERİ

Klinikte premedikasyonda, bölgesel anestezide işlemden önce ve süresince sedasyon, anestezi indüksiyonu ve idamesi, yoğun bakımda ve postoperatif dönemde uzun süreli sedasyon, hasta kontrollü sedasyon, diş hekimliği, obstetrik, endoskopi, kardioversiyon ve kardiyak kateterizasyon, radyodiagnostik girişimlerde sedasyon ve uyku sağlamak amaçlı kullanılmaktadır (7).

Benzodiazepinlerin sedatif-hipnotik, anksiyolitik, kas gevşetici ve antikonvülzan özellikleri olduğu kabul edilir (6)

Ancak son yıllarda hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda santral yollarla verildiklerinde ağrıyı önlemede de etkili oldukları bildirilmiştir (8-13).

Midazolam,  $GABA_A$  reseptör kompleksini etkileyip  $Cl^-$  geçirgenliğini artırarak etkisini gösterir. Böylece hiperpolarize durumda kalan hücrede nöronal uyarılma olmaz (6) ve spinal kordda glutamat salınımı azalır. Ağrının transmisyonu ve persepsiyonu azalır (13).

Primer afferentlerin presinaptik inhibisyonunda  $GABA$ 'erjik sistem önemli bir rol oynar. Benzodiazepin reseptör agonistleri; spinal kordda  $Cl^-$  iletkenliğini artırarak benzodiazepin reseptörleri ile  $GABA_A$  reseptörlerini bağlayarak  $GABA$ 'nın etkisini artırır ve bu olay spinal kordda glutamat salınımını azaltır. İntratekal midazolam  $GABA$  reseptörleri üzerinden rol oynar ve geri dönüşümlü segmental antinosiseptif etki gösterir (11).

Bir diğer görüşe göre ise spinal korddaki tipik benzodiazepin- $GABA$  reseptör kompleksini etkileyerek analjezi oluşturur (8).

Diğer taraftan midazolam spinal korddaki  $\mu$  reseptörleri dışında büyük bir olasılıkla  $\kappa$  opioid reseptörleri aracılığıyla, opioid reseptörlerini etkileyerek analjeziye sebep olabilir (44).

## **SPİNAL OLARAK UYGULANAN İLAÇLARIN NÖROTOKSİSİTESİ**

Spinal kord nörofarmakolojisinde gelişmeler anestezi ve ağrı yönetiminde spinal yollarla ilaç kullanımına olan ilgiyi arttırmıştır. Spinal kordda reseptörlere özgü ajanların direkt olarak uygulanması özel ağrı yollarını kesintiye uğratabilir ve sistemik yan etkileri sınırlandırabilir. Fakat bu uygulamalar santral sinir sistemini hasarlanma (nörotoksisite) riskini de beraberinde getirmektedir (14).

Bir ilacın spinal yollarla uygulanması sonrası spinal kord veya sinir köklerindeki toksik etkiler, histolojik, fizyolojik veya davranışsal/klinik değerlendirmelerle belirlenir (14).

### **Nörohistopatoloji:**

Toksisite çalışmaları öncelikle histopatolojik değerlendirmeler üzerine odaklanmalıdır. Çalışmalarda farklı dozlar, konsantrasyonlar ve uygulama süreleri kullanılarak hedef hücrelerin incelenmesi gerekmektedir (52). Histopatolojik olarak gliozis ve myelin kılıfta zararlanmaların gözlenmesi nöronal hasarlanmayı göstermektedir (14).

### **Fizyolojik nörotoksisite:**

Fizyolojik nörotoksisite, spinal kord kan akımında değişiklikler, kan beyin bariyerinde bozulmalar ve uyarı iletiminin elektrofizyolojisindeki değişiklikler ile belirlenebilmektedir (14).

### **Nörotoksisitenin davranışsal ve klinik belirtileri:**

Ağrı, motor ve duysal kayıp, barsak ve mesane fonksiyon bozuklukları nörotoksisite varlığını gösteren davranışsal ve klinik bulgulardır.

İdeal olan, bir ilacın insanlarda spinal olarak kullanımından önce güvenilirliğinin, değişik hayvan örneklerinde histolojik, fizyolojik ve davranışsal/klinik değerlendirmeler ile gösterilmesidir (14).

## RATLARDA AĞRI ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Ratlarda akut ağrı çalışmalarında çeşitli uyaranlar kullanılmaktadır. Yeterli uyarı oluşturmak için, şiddeti belirlenebilen, tekrar üretilebilen ve non-invaziv olma özelliklere sahip bir uyarı uygulanmalıdır (53).

Kullanılan uyarılar;

- 1) Elektriksel uyarı
- 2) Termal uyarı
- 3) Mekanik uyarı
- 4) Kimyasal uyarı

Termal uyarı; ağrı eşiğine kadar deri üzerinde ısıyı arttırmalıdır. Bu etkileşim bazı parametrelere bağlıdır;

- 1) Derinin radyasyon özellikleri; bunlar yansıtma, geçirme ve absorbandsır.
- 2) Derinin iletme özellikleri
- 3) Derinin başlangıç ısısı
- 4) Derinin belirli bir bölgesine verilen enerji miktarı; bu hem enerji kaynağının gücüne hem de enerjinin verilmiş süresine bağlıdır.

Ratlarda kullanılan akut ağrı ölçüm yöntemleri (53);

A. Termal uyarı kullanan testler

- 1) Tail-Flick testi
- 2) Pençe çekme testi
- 3) Hot Plate testi
- 4) Soğuk uyarı testi

B. Mekanik uyarı kullanan testler

C. Elektriksel uyarı kullanan testler

- 1) Kuyruğun elektriksel uyarılması
- 2) Diş pulpasının elektriksel uyarılması
- 3) Ekstremitenin elektriksel uyarılması

Ratlarda kullanılan kronik ağrı ölçüm yöntemleri (53);

A. İntradermal enjeksiyonlar; Formalin testi

B. İrritan ajanların intraperitoneal enjeksiyonu; Writhing test

C. İçi boş organların uyarılması



## TAIL-FLICK TESTİ

Tail-flick testinin iki varyantı vardır. Biri kuyruğun küçük bir yüzeyine radyan ısı uygulamasıyla, diğeri ise önceden ısısı belirlenmiş bir suyun içine kuyruğun batırılmasıyla uygulanır (53).

A) Radyan ısı kullanılan Tali-Flick testi: Bu testi ilk olarak 1940 yılında Hardy ve ark insanlar üzerinde uygulamışlardır. D'Amour ve Smith 1941 yılında bu testi, hayvanın kuyruğuna termal radyasyon uygulamasıyla, hayvanın şiddetli şekilde kuyruğunu çekmesi olarak tanımlamışlardır. Tail-Flick süresi, bu hareketin oluşmasına kadar geçen reaksiyon süresi olarak tanımlanır. Kuyruğun çekilmesiyle ışık kaynağı ve süre durur. Reaksiyon süresinin uzaması analjezik etki olarak yorumlanır. Kuyruğun 20 sn den fazla ışık kaynağına maruziyeti, ciltte oluşabilecek yanık nedeniyle tavsiye edilmemektedir. Tail-Flick testi, spino-bulbo-spinal nöral yapıların katıldığı kompleks bir reflekstir (53).

B) Kuyruğun suya batırılmasıyla uygulanan Tail-Flick testi: Diğeri testin bir varyantıdır. En büyük farkı uyarılan alanın büyüklüğüdür. Bu testte kuyruğun ısısı daha hızlı yükselir ve süreyi ölçmek daha zordur (53).

Kritik yanıt sıcaklığına ulaşmada kuyruğun ısıtılması için gerekli olan süre, vücut ve çevre sıcaklığı etkileri dahilinde, lokal kan akımı ile belirlenen başlangıç deri ısısına bağlıdır (54).

İlaç verirken veya kan akışı ya da ısı regülasyonunu etkileyen bir lezyon oluştururken, bu karmaşık faktörlerin farkında olmak önem taşımaktadır. Test sonuçlarını etkileyen tüm değişkenlerin deney boyunca sabitlenmesi önemlidir. Bunlar; sadece çevre ısısı değil aynı zamanda hayvanların vazomotor tonusunu etkileyen faktörlerdir (54).

Kuyruk deri ısısındaki artış, tail-flick latensini kısaltabilir ve hiperaljezi olarak yorumlanabilir. Tersine tedavi verilmemiş hayvanlardakine göre daha düşük deri ısısı da görülebilir ve analjezi olarak yorumlanabilir. Eğer deri ısısındaki değişim göz önüne alınmazsa, bu değerdeki tail-flick latens azalması hiperaljezik durum belirtisi olarak değerlendirilir. Kuyruk ısısı çevre ısısına yakın olduğunda tail-flick latensi, vazokonstriksiyon yapıcı tedavilerden ve ısı korumalı durumlardan etkilenmez (54).

Yeni çevreye, elle tutmaya ya da enjeksiyon prosedürlerine bağlı stres, periferik kan akımı ve kuyruk ısısını etkileyebilecek bir faktördür. Motor aktivasyonla birlikte olan stres, ısı yapımında artışa, vücut ısısında artışa, vazodilatasyon periyodlarının sıklık ve sürelerinde

artışa ve kuyruk ısısında artışa neden olabilir. Sonuç olarak, kuyruk deri ısısı tail-flick test sonuçlarında önemlidir. En azından bazı koşullar altında, deri ısısındaki değişimler, yanıt latensini etkileyebilir. Örneğin monoaminerjik sistemler gibi otonomik aktivite ve termo ya da kardiyovasküler regülasyonu etkileyen ilaç ya da faktörlerin araştırmasında, deri ısılarının etkilerinin hesaba katılması zorunludur. Kuyruk deri ısısı ölçümlerinin kaydedilmesi ve ısı değişimlerinde buna göre, tail-flick latensinin düzeltilmesiyle, bu sorun azaltılabilir (54).

Başka denenen bir alternatif, tail-flick latens ölçümünden önce, kuyruğa, belli bir ısıya kadar lokal ön ısıtma uygulanmasıdır. Eğer, stimulasyonun başlamasından önce deri ve subkutan dokunun ısısı sabitlenirse, bu, doku ısılarını değiştiren karmaşıklaştırıcı etkiyi engeller. Duggan ve ark. (1978), anestetize kedilerdeki elektrofizyolojik deneylerde, lambayla ön ısıtma ve feedback kontrol için ısıtılacak bölgede ısıtma pili kullanmışlardır bu prosedür, kan akımında farklılıklara yol açan etkiyi azaltmıştır (54).

## **RATLARDA MOTOR KOORDİNASYON / SEDASYON YÖNTEMLERİ**

Hayvan modellerinde motor koordinasyon ve sedasyonu belirlemek için rotarod ve beam walking yöntemi gibi testler kullanılmaktadır (55).

### **ROTAROD TESTİ**

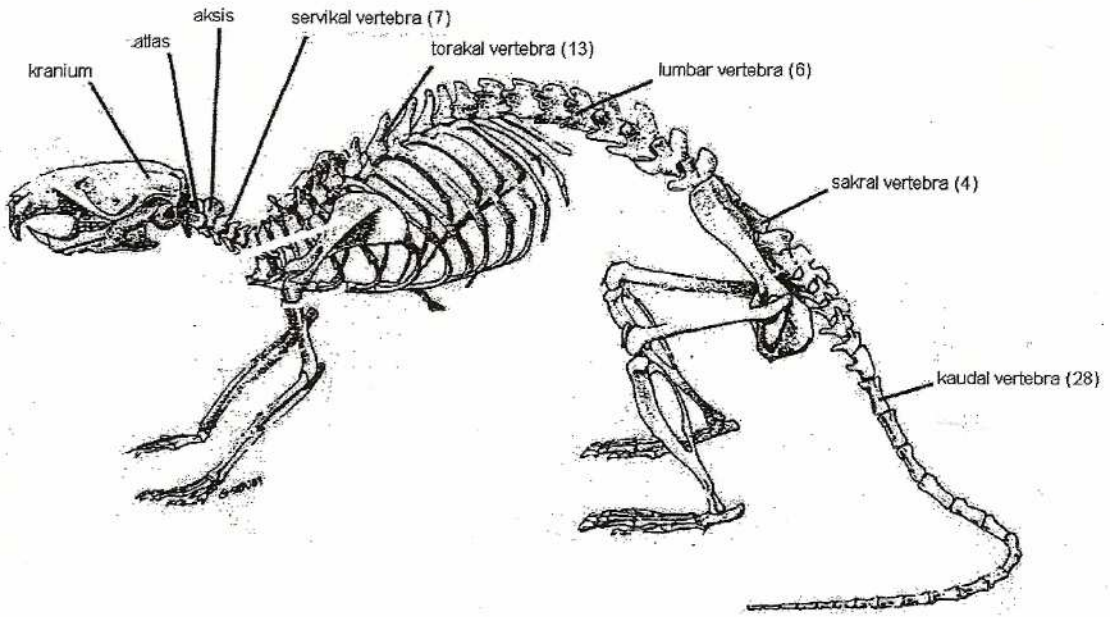
Klinikte sedasyon, uyanıklığın belirlenmesi, dikkat, bilgi işlemi ve motor becerilerin de dahil olduğu bir dizi kognitif ve psikomotor testler kullanılarak ölçülmektedir. Ancak, bu testlerin subjektif olmaya meyilli olması nedeniyle bunların hayvan modellerine uyarlanması güç olmaktadır. Sonuç olarak, sedasyon ve motor koordinasyon defisitlerinin ayrıldığı hayvan modelleri neredeyse imkansızdır (55).

En yaygın kullanılan, pahalı olmayan teçhizatı, basit onaylı protokolleri ve basit girişimiyle tutarlı sonuçlar sağlayan, rotarod yöntemidir. Genel olarak yeni ilaçların oluşturduğu klinik sedasyonu belirlemede kullanılmaktadır. İlaç verildikten sonra hayvan cihaza yerleştirilir ve düşene kadar geçen süre düşme latensi olarak kaydedilir. Ölçüm yapılmadan önce hayvanlar cihaza alıştırmalıdır (55).

## RATLARDA VERTEBRAL KOLON, SPİNAL KORD ve BOS

### Vertebral Kolon

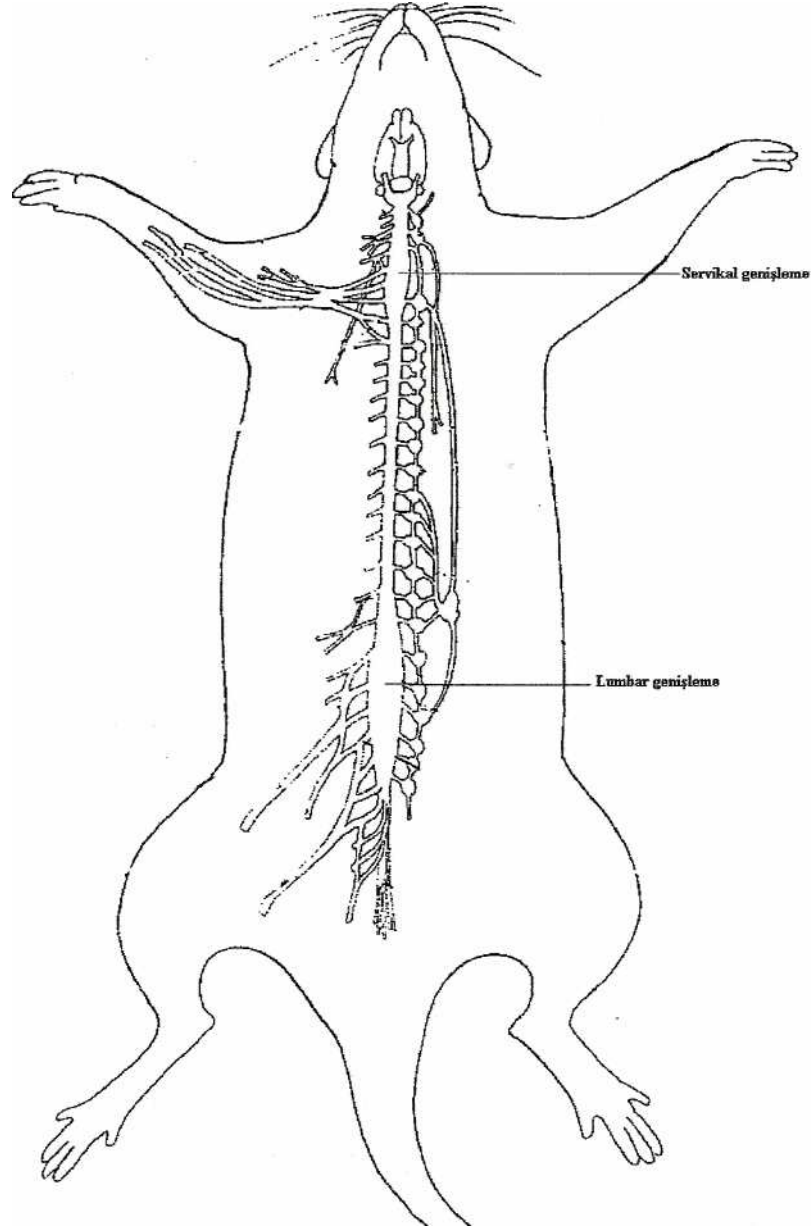
Kraniyalden kaudale doğru 7 adet servikal, 13 adet torakal, 6 adet lumbar, 4 adet sakral, 28 adet kaudal olmak üzere 58 adet vertebradan oluşmaktadır.



Şekil 3. Ratın iskelet sistemi (56)

### Spinal Kord

Kranialde medulla oblongatanın devamı olarak başlar. Nöral kanal içinden geçer ve ince filamentlerle (filum terminale) sonlanır. Servikal ve lumbar alanlarda, çıkan sinirlerin olduğu genişlemeler vardır.



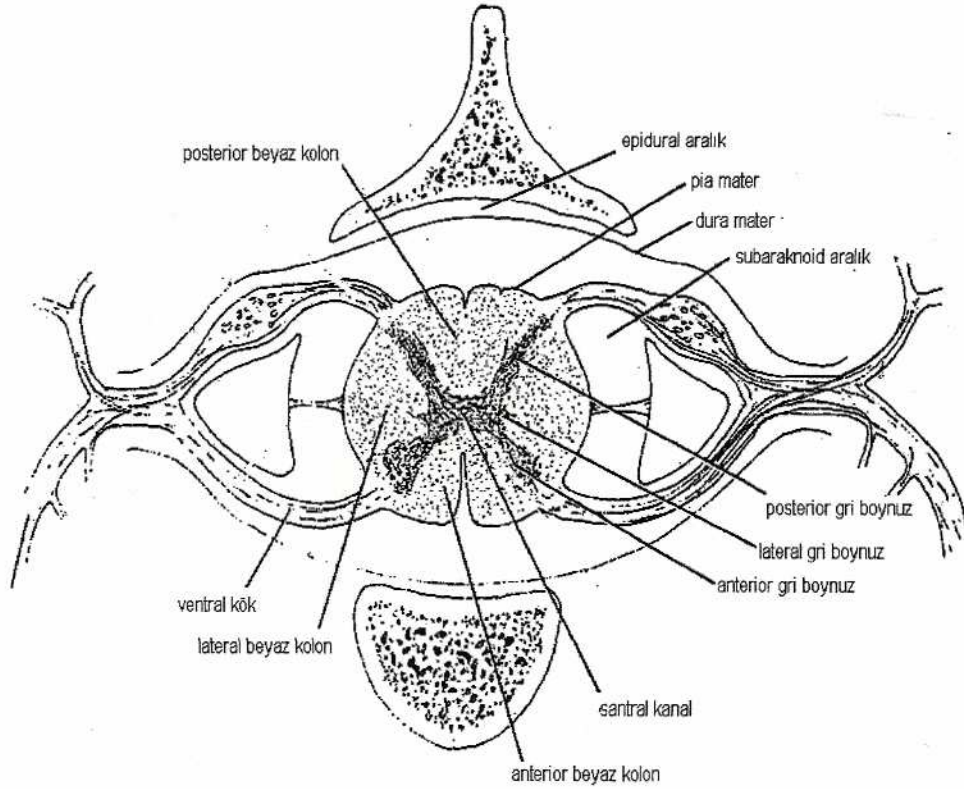
**Şekil 4. Ratın spinal kordunun servikal ve lumbar genişlemeleri (56)**

**Meninksler:** Beyini saran meninkslerin devamıdır. En dışta dura mater, ortada araknoid ve içte pia mater yer alır. Araknoid ve pia mater serebrospinal sıvıyı içeren subaraknoid boşlukla ayrılır.

**Gri cevher:** Spinal kordun merkezinde sinir dokusunun H şeklindeki kitlesidir. İki ventral kolu anterior gri boynuz, iki dorsal kolu posterior gri boynuz olarak adlandırılır. Daha küçük lateral yansımaları lateral gri boynuzlar olarak adlandırılır. Merkezindeki küçük boşluk

santral kanaldır. Gri madde destek doku ve nöron hücre cisimciklerinden oluşur. Fonksiyonel olarak ventral taraf motor ve dorsal taraf duysal sinir liflerini içermektedir.

**Beyaz cevher:** Gri cevheri çevreleyen sinir dokusudur. Duysal liflerin asendan yolunu ve motor liflerin desendan yolunu birleştirir. Spinal kordun kesitlerinde dört kolon olarak gözlenir: bir ventral, bir dorsal ve iki lateral (56).



**Şekil 5. Ratın spinal kord kesitindeki yapılar (56)**

## BOS'un Biyokimyasal Özellikleri (57)

**Tablo1. Ratta ve insanlarda BOS'un biyokimyasal özellikleri**

PARAMETRELER	RAT	İNSAN
Osmolite (mOsm/kg)	302	295
pH	7.35	7.33
Günlük üretim (mL)	10.1	400-500
Na <sup>+</sup> (meq/L)	156	138
K <sup>+</sup> (meq/L)	2.8	2.8
Cl <sup>-</sup> (meq/L)	126	119
Glikoz (mg/dL)	65	60
BOS volümü (mL)	0.25	120-150

## **GEREC VE YÖNTEM**

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

### **Denekler**

Dokuz Eylül Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarları'nda yetiştirilen, % 87 homojeniteye sahip, ağırlıkları 250-280 gram (g) arası değişen ve normal motor aktiviteye sahip 27 adet Wistar Albino türü erkek rat araştırmaya alındı. Denekler ortama alışmaları amacıyla çalışmaya başlamadan önce bir hafta süresince standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz-12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısı) bulunduruldu. Yiyebilecekleri kadar su ve yiyecek verildi.

### **Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri**

- Araştırma sürecinde aşağıda belirtilen sorunların gözlemlendiği denekler çalışmadan çıkarıldı;
- Kateter yerleştirilmesi sırası ve sonrasındaki beş gün içerisinde ön ve arka ayaklarında motor fonksiyon bozukluğu gelişen denekler,
  - İzlem sırasında enfeksiyon oluşması,
  - İntratekal kateterden uygulanan lokal anestezi sonrasında, 30 sn içinde arka bacaklarında paralizi ve sürükleme davranışı gözlenmeyen denekler,
  - Araştırmanın son aşamasında yapılan laminektomilerde, kateter ucunun intratekal aralıkta olmadığı gözlenen denekler,
  - Laminektomi sırasında, kateter ucunun lumbar genişleme seviyesinde olmaması durumunda, ilacın subaraknoid boşlukta dağılımının değişebileceği düşünülerek histopatolojik değerlendirme yapılmadı.



## **Hazırlık**

### **Kateterin Hazırlanması**

İntratekal uygulamalar için, 20 G(Gauge) polietilen (PE) bir kateter (Porteks®, Smiths Medical MD, International Ltd, London, İngiltere) kullanıldı. Kateter steril koşullarda 11 santimetre (cm) kalacak şekilde proksimal bölümünden kesilerek kısaltıldı. Hazırlanan kateter 10 mikrolitre ( $\mu\text{L}$ ) serum fizyolojik (SF) ile dolduruldu ve cerrahi işlem süresince steril ambalajında saklandı.

### **İlaçların Hazırlanması**

İlaçlar 10  $\mu\text{L}$ 'lik serum fizyolojik solüsyonu içerisinde ropivakain (Naropin, Astra Zeneca İlaç Sanayii ve Ticaret Limited (Ltd.), İstanbul, Türkiye) 50 mikrogram ( $\mu\text{g}$ ), midazolam (Dormicum, Roche İlaç Sanayii ve Ticaret Ltd., İstanbul, Türkiye ) 20  $\mu\text{g}$  ve 20  $\mu\text{g}$  midazolam + 50  $\mu\text{g}$  ropivakain olacak şekilde hazırlandı.

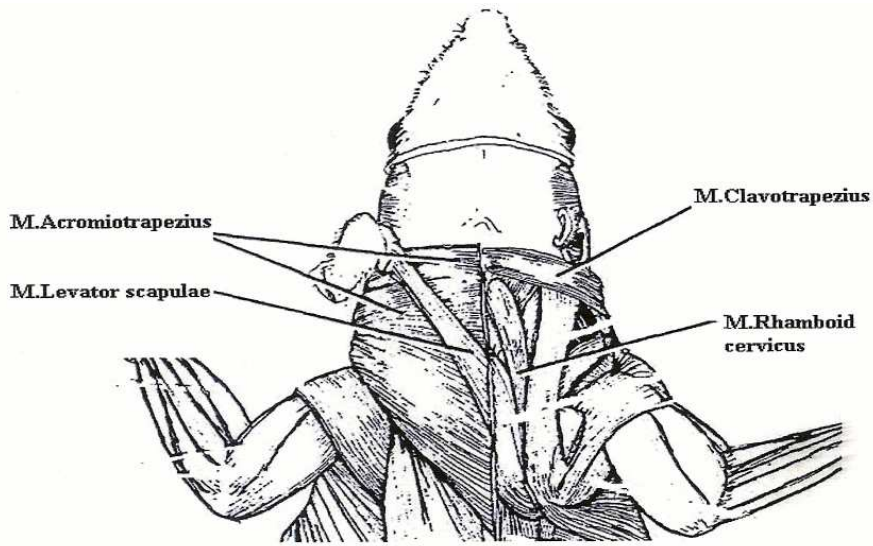
İlaç ve salin uygulamaları, intratekal kateterden Hamilton enjektörü (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, İsviçre) kullanılarak yapıldı.

### **Deneklerin Hazırlanması**

Deneklere spontan solunumları ve göz kırpma refleksleri korunacak şekilde intraperitoneal olarak 30 mg/kg tiyopental (Pental® Sodyum İ.E. Ulugay İlaç Sanayii Türkiye Anonim Şirketi, İstanbul, Türkiye) ile anestezi uygulandı. Spontan hareketleri kaybolan denek yüz üstü pozisyonda masaya yatırıldı. İki kulak arasından kaudale doğru uzanan 4 cm x 2 cm'lik alan tıraş edildi. Alan povidon iyot ile silindi ve % 1'lik 1 mL lidokain cerrahi insizyon yapılacak bölgede ciltaltına infiltre edildi.

İntratekal kateterizasyonlar, Yaksh ve Rudy'nin (58) 1976'da tanımladığı ve daha sonra 2004 yılında Korkmaz ve ark. (59) modifiye ederek kullandıkları yöntem ile atlantoaksiyal membrandan gerçekleştirildi.

Yüz üstü pozisyondaki ratın kulakları arasından, kaudale doğru orta hatta yaklaşık 2 cm uzunluğunda cilt ve ciltaltı insizyonu yapıldı. Yüzeysel boyun kasları (*m.akromiotrapezius*, *m.levator scapulae*), derin boyun kasların (*m.clavotrapezius*, *m.rhomboid cervicus*) (Şekil 6) görülebilmesini kolaylaştırmak amacıyla, eğimli bir retraktör yardımıyla kafatasının tepesinden kaudale doğru yavaşça gerildi.



**Şekil 6. Ratın dorsal boyun kasları; derin boyun kasları (solda), yüzeysel boyun kasları (56)**

Derin boyun kaslarını oksipital çıkıntındaki tutunma noktalarından yaklaşık 0.5cm serbestleştirmek için Senn-Miller (Senn-Miller, Medicon, Tuttlingen, Almanya) ekartörü kullanıldı. Fasiyal tabaka hafifçe sıyrıldığında, kafatası tabanı, birinci (atlas) ve ikinci (aksis) servikal vertebra görüldü.

Atlas ve aksis arasındaki eklemin (*articulatio atlantoaxialis*) daha iyi görülebilmesi için ratın başına 30° antefleksiyon verildi. Aksisin spinöz çıkıntısının ucundaki yaklaşık 2-3 mm'lik kıkırdak doku bir penset (Adson, Medicon, Tuttlingen, Almanya) yardımıyla çıkartıldığında atlantoaksiyal membran görüldü.

Atlantoaksiyal membranın orta hattında kateterin girişini sağlamak amacıyla membranın hemen altında uzanan medulla spinalisin hasarlanmamasına dikkat edilerek, 21 G disposable iğnenin keskin ucu ile küçük bir delik oluşturuldu. BOS'un geldiği gözlemlendi.

Kateter bu delikten, medulla spinalisin dorsal yüzüne paralel olacak şekilde parmaklar arasında döndürülerek yavaşça kaudale doğru ilerletildi ve 1-2 cm ilerletildikten sonra kuyruk hafifçe çekildi. Böylece *columna vertebralis*'in düz pozisyonda olması sağlandı. Kateter toplam 8 cm kaudale ilerletildikten sonra dışarıda kalan kısmının ucu vücut dışında kalacak şekilde yakılarak kapalı hale getirilip tespit edildi. İnsizyon sahası ciltaltına kadar sütürlendi. Böylece deneklerin intratekal kateterizasyonu tamamlandı. Son olarak cilt kesisi sütüre edilerek cerrahi işlem sonlandırıldı.

Anestezi etkisinden kurtulan ve motor fonksiyonları normal olan deneklere cerrahiden bir gün sonra kateterden, 10µL %2 lidokain (200 µg) (Aritmal, Biosel Şirket, İstanbul, Türkiye) verildi. Kateter lokal anestezi enjeksiyonunun ardından 10 µL SF ile yıkandı. Enjeksiyon sonrası 30 sn içinde deneklerin arka bacaklarında paralizi ve sürüklenme davranışı gözlenmesi kateterin intratekal alanda yerleştiğini doğruladı.

Enfeksiyon profilaksisi için tüm ratlara, intraperitoneal 10 mg/kg/gün sefazolin sodyum (Cefamezin, Eczacıbaşı İlaç Sanayii ve Ticaret Anonim Şirketi, İstanbul, Türkiye) 5 gün verildi.

## Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

İntratekal ilaç ve salin uygulamalarına, normal motor davranış gösteren ve nörolojik hasarlanma bulgusu olmayan ratlarda, cerrahi işlem sonrası 5.günde başlanıldı.

Ratlar, randomize olarak 5 gruba ayrıldı:

Grup Sh (n:3): Sham grubu olarak anestezi altında tüm cerrahi işlemler yapıldı. Ancak kateter takılmadı.

Grup S (n:6): 10  $\mu$ L % 0.9 SF solüsyonu

Grup R (n:6): 10  $\mu$ L 50  $\mu$ g ropivakain (5 mg/mL)

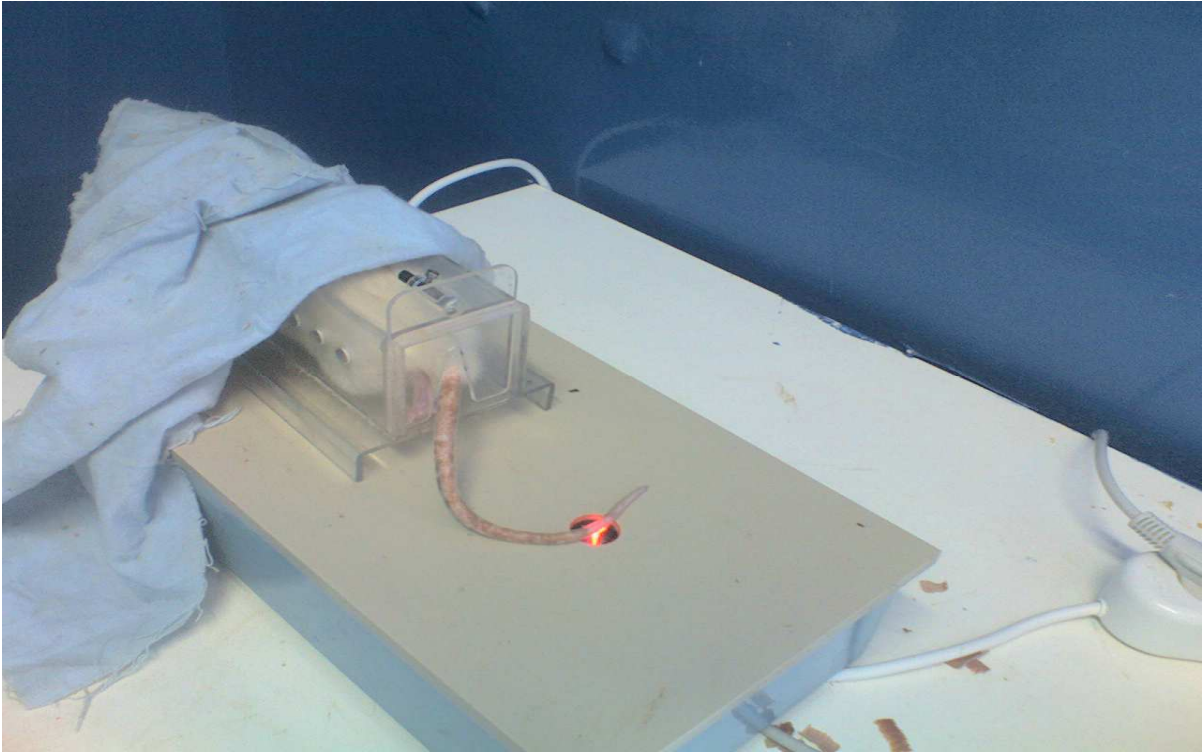
Grup M (n:6): 10  $\mu$ L 20  $\mu$ g'lık midazolam

Grup MR (n:6): 10  $\mu$ L 20  $\mu$ g midazolam + 50  $\mu$ g ropivakain verildi.

Kateter ilaç uygulamalarının ardından 10  $\mu$ L SF ile yıkandı.

## Tail-flick ve Rotarod Testi

Tail-flick testi, tail-flick cihazı (MAY TF 0703TAIL FLICK, COMMAT Ltd. Sti, Türkiye) (Resim 1) ile ortam ısısı 20-21  $^{\circ}$ C olan sessiz bir odada gerçekteşirildi.



Resim 1. Tail-flick cihazı

İlaç uygulamasından bir gün önce tüm denekler ölçüm yapılmaksızın tail-flick cihazı ve rotarod cihazına (MAY RR 0805 ROTA ROD, COMMAT Ltd. Sti, Türkiye) (Resim 2) yerleştirilerek öğrenme alıştırmaları yapıldı. Termal stimülasyon kuyruğun 3 cm distali işaretlenerek yapıldı. Stimülasyonun başlaması ve kuyruk çekilmesi arasındaki zaman kuyruk çekme (tail-flick) süresi olarak ölçüldü. Kuyruğun yaralanmasını engellemek için cevap alınmadığında ki zaman (cut-off time) 14,9 saniyeye ayarlandı. İlaç uygulamasından önce 0. dakikada (bazal) üç ölçüm ve uygulamadan sonraki 10, 20, 30, 45, 60 ve 90. dakikalarda iki ölçüm yapıldı. Ölçümlerin ortalaması kaydedildi.

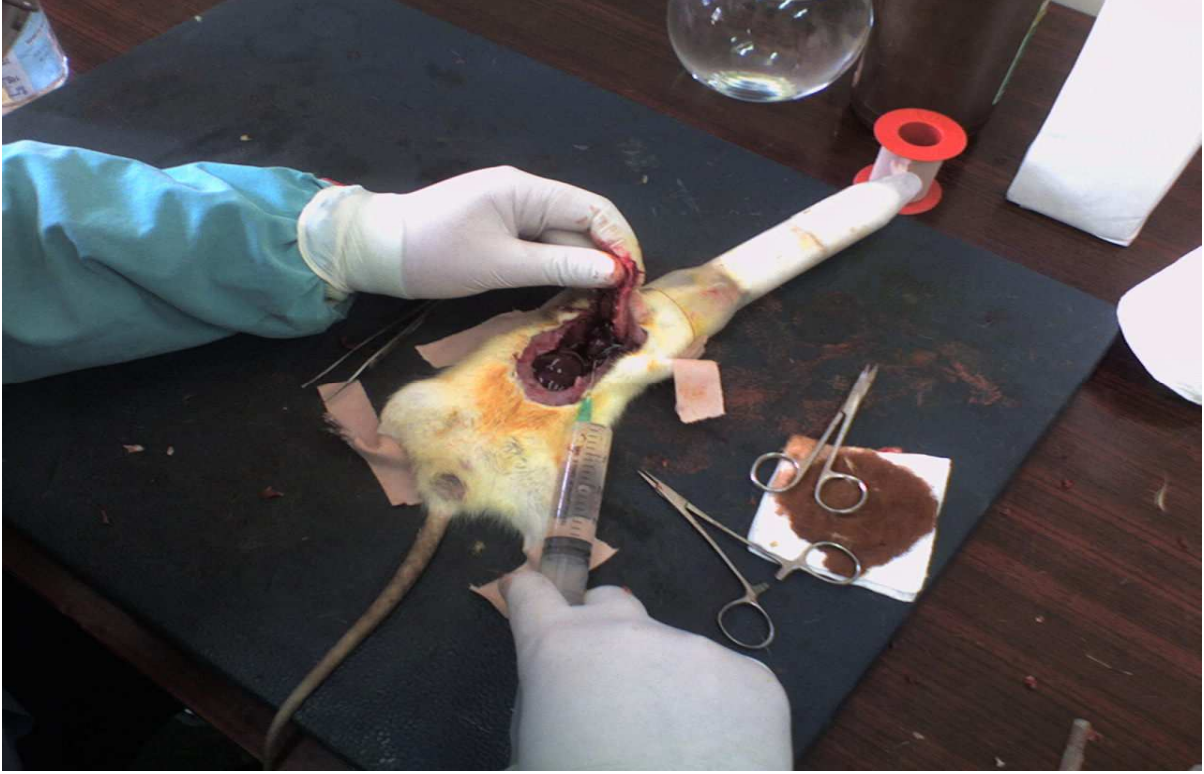
Ratların motor denge ve koordinasyonu, tail-flick testinden sonra eşzamanlı olarak rotarod testi ile değerlendirildi. Rotarod testi için, hayvanlar grup grup çalışıldı. Her hayvan 4 pençesiyle, dakikada 12 tur dönen yerden 25 cm yükseklikteki 2,5 cm çaplı barın üzerine yerleştirildi. Her hayvan için bar üzerinde durma süresi kaydedildi.



**Resim 2. Rotarod cihazı**

## Histopatolojik Değerlendirme

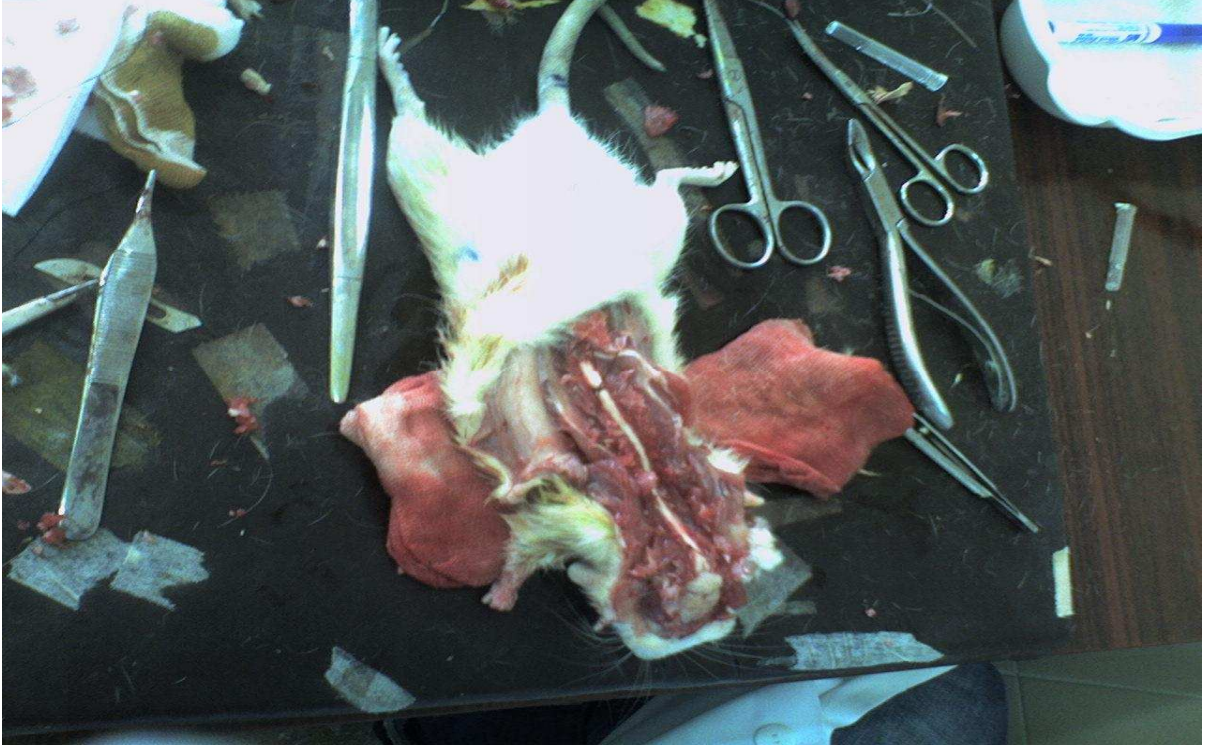
Tail-flick ve rotarod testinden tam bir gün sonra ratlar eter anestezisi altında %4 paraformaldehid ile transkardiyal yolla perfüze edildi (Resim 3).



**Resim 3. Ratın perfüze edilmesi**

Perfüzyon ile fiksasyonun ardından, bilateral laminektomi ile kateter ucunun lokalizasyonu doğrulanan (lumbar genişlemede olanlar) deneklerin spinal kordu vertebral kolondan çıkarılıp (Resim 4), % 10'luk formol içerisinde 1 gece saklandı. Sertleştirici madde olan parafinin doku aralıklarına girebilmesi amacıyla fikse edilen dokuya etanol ile dehidrasyon ve ksilol ile şeffaflaştırma işlemleri uygulandı.

Ardından 1 gece parafin içinde bırakılan spinal kordun dört seviyesinden 6-7  $\mu\text{m}$  incelikte kesitler alındı. Bu kesitler Hemotoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobu düzeyinde değerlendirildi.



**Resim 4. Ratın spinal kordunun çıkarılması**

Histopatolojik incelemeler aşağıdaki dört bölgeden alınan kesitlerde yapıldı:

- Üst servikal C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>
- Orta torasik T<sub>8</sub>
- Alt servikal C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>
- Lumbar L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>

Spinal korddan alınan örneklemelerdeki anormallikler ve zararlanmalar Malinovsky ve ark. (60) tarafından tanımlanan skorlamaya göre belirlendi.

**Tablo 2. Histopatolojik Skorlama**

0	Anormal hücre yok
1	Hemoraji Glial hücre reaksiyonu Bu değişikliklerin birkaç alanda gözlenmesi
2	Gri cevherde belirgin nekroz, Büyük hemoraji veya yaygın demyelinizasyon, Fibrozis ve inflamatuvar hücrelerin varlığı

Histopatolojik incelemeler Dokuz Eylül Üniversitesi Histoloji Anabilim Dalı'nda, çalışmada uygulanan tedavileri, tedavi gruplarını ve deneklerdeki nörolojik değerlendirme sonuçlarını bilmeyen bir histoloji uzmanı tarafından yapıldı.

### **İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistik analiz SPSS for Windows istatistik programının 11.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma biçiminde verildi. Grup içi karşılaştırmalarda Friedman ve bunu izleyen Wilcoxon testi uygulandı.  $P < 0.05$  ise sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arası karşılaştırmada Kruskal-Wallis bunu izleyen Mann-Whitney U testi. Nonparametrik veriler için ki-kare testi, bunu izleyen Fisher exact testi uygulandı.



## **BULGULAR**

Kateter takıldıktan sonra izlem sırasında 3 ratın arka bacağında gelişen motor fonksiyon kaybı ve 2 ratın da ölmesi üzerine 5 denek araştırmadan dışlandı. Sayının 27'ye tamamlanması için 5 rat daha araştırmaya alındı.

### **Vücut Ağırlıkları**

Vücut ağırlıklarının ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 3).

**Tablo 3. Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları (g) Ort± SS.**

Grup Sham (n=3)	260.33 ±7.09
Grup S (n=6)	268.33± 8.01
Grup R (n=6)	261.83± 8.75
Grup M (n=6)	267.66±11.70
GrupMR (n=6)	266.00±11.24

### **Tail-Flick Testi**

Gruplar arasında tail-flick değerleri karşılaştırıldığında 0. dk. ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı.

Gruplar arasında 10. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR'da tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.041$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla  $p=0.041$ ,  $p=0.02$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.015$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında 20. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR'da tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.026$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.026$ ,  $p=0.026$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında 30. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.004$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.004$ ,  $p=0.015$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında 45. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.009$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.009$ ,  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında 60. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0,015$   $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.004$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.004$ ,  $p=0.026$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (Tablo 4).

Gruplar arasında 90. dk tail-flick ortalama değerleri Grup S ile Grup R, Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup R, Grup M ve Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R’de tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup MR tail-flick ortalama değerleri anlamlı yüksek saptandı (sirasıyla  $p=0.002$ ,  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında Grup MR tail-flick ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.002$ ) (Tablo 4).

Grup içi tail-flick ortalama değerleri karşılaştırıldığında; Grup S’de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup R, Grup M ve Grup MR’da 0.dk değerleri diğer tüm ölçüm değerleri ile karşılaştırıldığında 0.dk değerleri anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4. Grupların tail-flick ortalama değerleri (saniye). Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD olarak gösterilmiştir.**

Dk	Grup S(n=6)	Grup R(n=6)	Grup M (n=6)	Grup MR (n=6)
0	6.43 $\pm$ 0.68	6.49 $\pm$ 0.84 $\text{t}$	6.42 $\pm$ 1.06 $\text{t}$	6.16 $\pm$ 1.14 $\text{t}$
10	5.51 $\pm$ 1.26	12.09 $\pm$ 0.82 $\text{¶}\ddagger$	11.04 $\pm$ 0.38*	14.48 $\pm$ 0.64 $\text{†}\#\text{§}$
20	5.72 $\pm$ 1.18	12.02 $\pm$ 1.45 $\text{¶}\ddagger$	9.91 $\pm$ 1.11*	14.23 $\pm$ 0.77 $\text{†}\#\text{§}$
30	5.60 $\pm$ 0.88	12.07 $\pm$ 0.92 $\text{¶}\ddagger$	9.10 $\pm$ 1.27*	13.65 $\pm$ 0.67 $\text{†}\#\text{§}$
45	5.62 $\pm$ 0.75	11.25 $\pm$ 0.71 $\text{¶}\ddagger$	8.82 $\pm$ 1.11*	13.13 $\pm$ 0.33 $\text{†}\#\text{§}$
60	5.58 $\pm$ 0.68	11.40 $\pm$ 1.24 $\text{¶}\ddagger$	7.99 $\pm$ 0.97*	12.66 $\pm$ 0.22 $\text{†}\#\text{§}$
90	5.25 $\pm$ 0.74	10.55 $\pm$ 0.98 $\text{¶}\ddagger$	7.25 $\pm$ 0.72*	12.33 $\pm$ 0.23 $\text{†}\#\text{§}$

$\text{¶}$ =  $p<0.05$  Grup S ve Grup R karşılaştırıldığında,

\*=  $p<0.05$  Grup S ve Grup M karşılaştırıldığında,

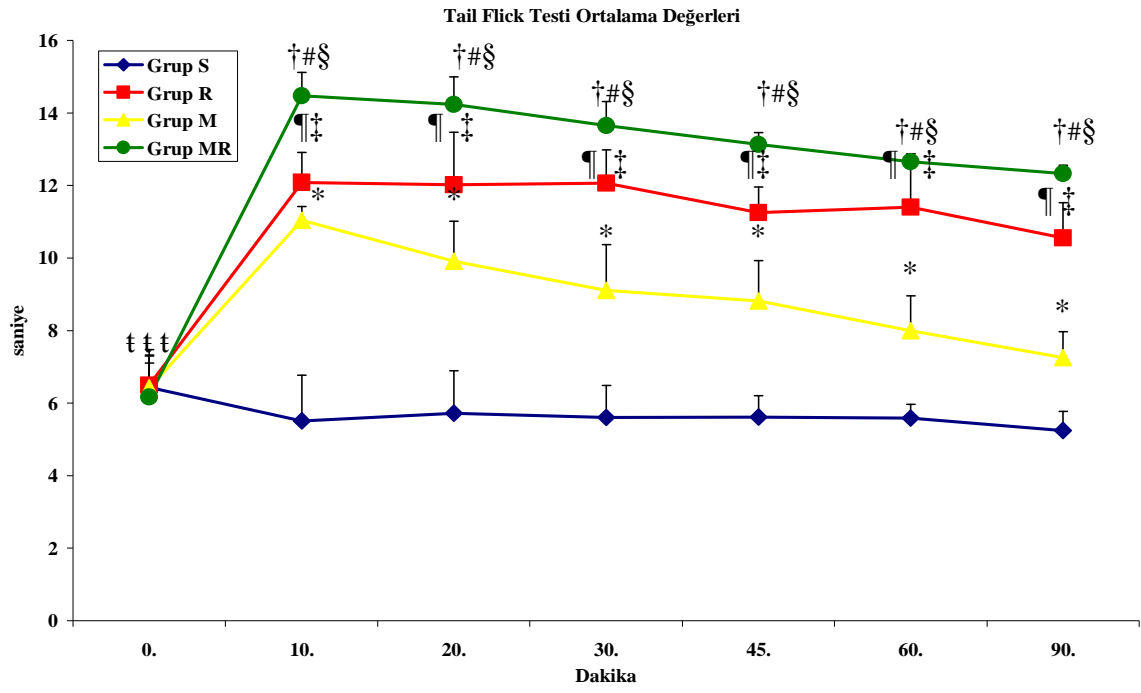
#=  $p<0.05$  Grup S ve Grup MR karşılaştırıldığında,

$\ddagger$ =  $p<0.05$  Grup R ve Grup M karşılaştırıldığında,

$\text{†}$ =  $p<0.05$  Grup R ve Grup MR karşılaştırıldığında,

$\text{§}$ =  $p<0.05$  Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında.

$\text{t}$  =  $p<0.05$  Grup içi karşılaştırmalarda



**Grafik 1. Tail-flick testi ortalama değerleri**

## Rotarod Testi

Gruplar arasında 0. dk. rotarod değerleri karşılaştırıldığında 0. dk.ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı (Tablo 5).

Gruplar arasında 10. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.004$  ve  $p=0.009$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.310$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksək bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksək bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.937$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında 20. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.699$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksək bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksək bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.240$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında 30. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.180$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksək bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksək bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.485$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında 45. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.937$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksek bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksek bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.180$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında 60. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.699$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksek bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksek bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.65$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında 90. dk rotarod ortalama değerleri Grup S ile Grup M ve Grup MR karşılaştırıldığında; Grup M ve Grup MR'da rotarod ortalama değerleri anlamlı dūřuk bulundu (sirasıyla  $p=0.026$  ve  $p=0.004$ ). Grup S ile Grup R karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.937$ ). Grup R ile Grup M karşılaştırıldığında Grup R'de rotarod ortalama değeri anlamlı yūksek bulundu ( $p=0.002$ ). Grup R ile Grup M ve MR karşılaştırıldığında Grup R rotarod ortalama değerleri anlamlı yūksek bulundu (sirasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.004$ ). Grup M ile Grup MR karşılaştırıldığında rotarod ortalama değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.093$ ) (Tablo 5).

Grup içi rotarod ortalama değerleri karşılaştırıldığında; Grup S ve Grup R'de istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Grup M ve Grup MR'da 0.dk değerleri diğer tūm Őlim değerleri ile karşılaştırıldığında 0.dk değerleri anlamlı olarak yūksek bulundu ( $p<0.05$ ).

**Tablo 5. Grupların rotarod ortalama değerleri (saniye). Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD olarak gösterilmiştir.**

Dk	Grup S(n=6)	Grup R(n=6)	Grup M(n=6)	Grup MR(n=6)
0	4.76 $\pm$ 0.65	5.00 $\pm$ 0.46	4.85 $\pm$ 0.22 †	4.75 $\pm$ 0.28 †
10	4.66 $\pm$ 0.89	5.05 $\pm$ 0.43	2.96 $\pm$ 0.68*‡	2.95 $\pm$ 0.62#†
20	4.70 $\pm$ 0.56	4.55 $\pm$ 0.37	3.10 $\pm$ 0.69*‡	2.66 $\pm$ 0.42#†
30	5.28 $\pm$ 0.54	4.85 $\pm$ 0.18	3.00 $\pm$ 0.61*‡	2.66 $\pm$ 0.69#†
45	4.91 $\pm$ 0.59	4.86 $\pm$ 0.15	3.23 $\pm$ 0.54*‡	2.81 $\pm$ 0.41#†
60	4.82 $\pm$ 0.50	4.90 $\pm$ 0.24	3.65 $\pm$ 0.40*‡	3.10 $\pm$ 0.36#†
90	5.09 $\pm$ 0.63	4.98 $\pm$ 0.21	4.36 $\pm$ 0.24*‡	3.78 $\pm$ 0.63#†

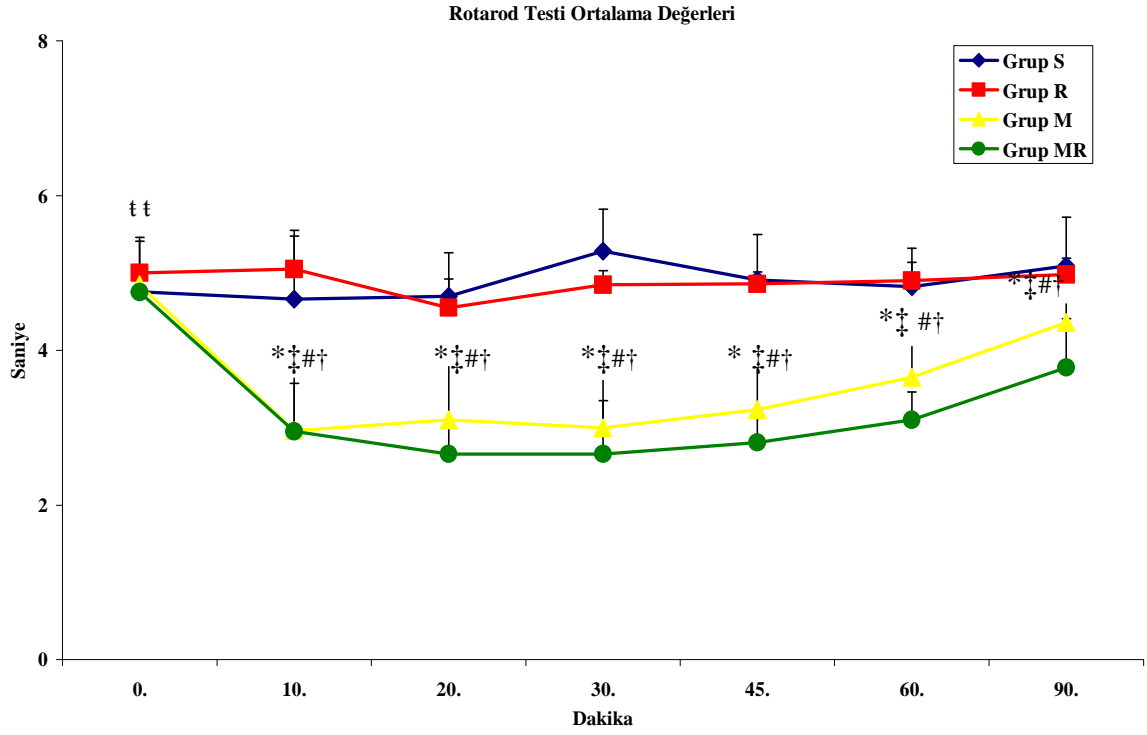
\*= p<0.05 Grup S ve Grup M karşılaştırıldığında,

#= p<0.05 Grup S ve Grup MR karşılaştırıldığında,

‡= p<0.05 Grup R ve Grup M karşılaştırıldığında,

†= p<0.05 Grup R ve Grup MR karşılaştırıldığında.

† = p<0.05 Grup içi karşılaştırmalarda



**Grafik 2. Rotorod testi ortalama değerleri**

### Histopatolojik Bulgular

Dört seviyedeki histopatolojik skorların ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6. Grupların histopatolojik skorlarının ortalama değerleri. Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD olarak gösterilmiştir.**

	Üst servikal C <sub>3</sub> - C <sub>4</sub>	Alt Servikal C <sub>7</sub> - C <sub>8</sub>	Torakal T <sub>8</sub>	Lumbar L <sub>1</sub> -L <sub>2</sub>
Grup Sham (n=3)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Grup S (n=6)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Grup R (n=6)	0.16 $\pm$ 0.40	0.16 $\pm$ 0.40	0.16 $\pm$ 0.40	0.00 $\pm$ 0.00
Grup M (n=6)	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Grup MR (n=6)	0.00 $\pm$ 0.00	0.66 $\pm$ 0.51	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00

Laminektomi yapılarak çıkarılan spinal kordda inspeksiyonla herhangi bir anormal bulgu (doku bütünlüğünde bozulma, kanama, nekroz) saptanmadı.



Grup Sh, Grup S deneklerin spinal kordlarından alınan kesitlerde anormal hücreye rastlanmadı (Skor 0) ve kanama gözlenmedi (Resim 5).

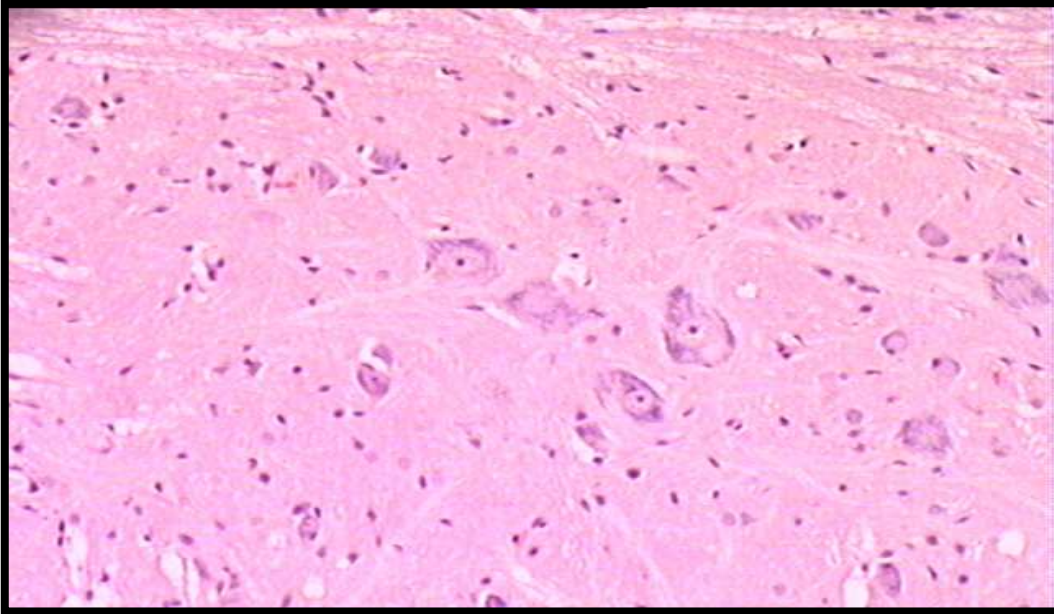
Grup M'deki deneklerin spinal kordlarından alınan kesitlerde anormal hücreye rastlanmadı (Skor 0) ve kanama gözlenmedi. (Resim 6).

Grup R'de bir deneğin torakal kesitinde (11.denek), bir deneğin alt servikal kesitinde (13. denek) ve bir deneğin üst servikal kesitinde (14.denek) beyaz cevherde sınırlı kalan, kanama gözlendi (Skor 1).

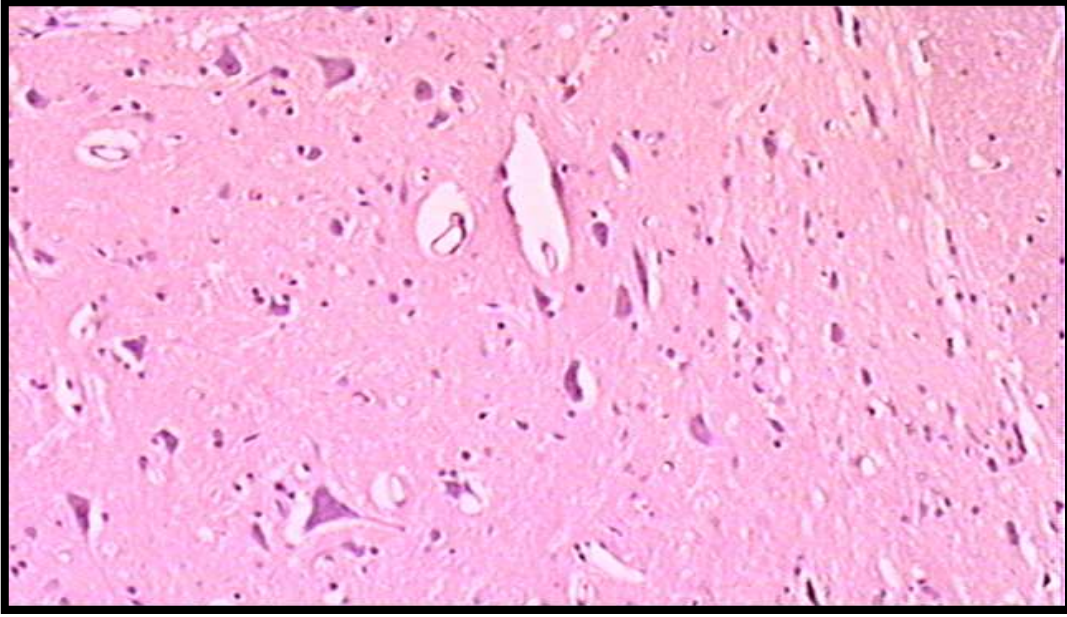
Grup MR'daki dört deneğin alt servikal kesitinde (22, 23, 24 ve 25. denekler) beyaz cevherde sınırlı kalan kanama gözlendi. (Skor 1) (Resim 7).

İncelenen kesitlerin hiçbirinde gliozis, demyelinizasyon, fibrozis ve inflamatuvar hücre varlığına rastlanmadı.

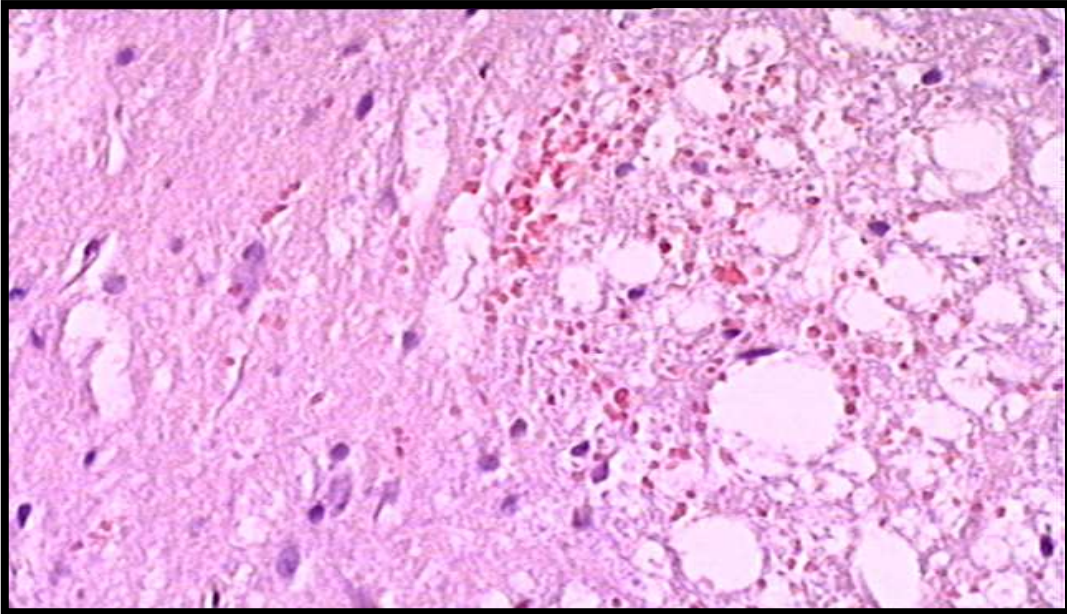
Spinal kordun üst servikal, alt servikal, orta torasik ve lumbal segmentlerinden alınan örneklemelerdeki histopatolojik bulguların skorları Tablo 6 da sunulmuştur.



**Resim 5. Grup S'deki 3. deneğin lumbal kordundan alınan kesit**



**Resim 6. Grup M'deki 3. deneğin torakal kordundan alınan kesit**



**Resim 7. Grup MR'daki 2. deneğin alt servikal kordundan alınan kesit**

**Tablo 7. İncelenen kesitlerdeki histopatolojik skorlamalar**

<b>Grup</b> <b>Seviye</b>	<b>Üst servikal</b> <b>C<sub>3</sub> - C<sub>4</sub></b>	<b>Alt Servikal</b> <b>C<sub>7</sub> - C<sub>8</sub></b>	<b>Torakal</b> <b>T<sub>8</sub></b>	<b>Lumbar</b> <b>L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub></b>
<b>Grup Sh</b>				
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
<b>Grup S</b>				
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0
9	0	0	0	0
<b>Grup R</b>				
10	0	0	0	0
11	0	0	1	0
12	0	0	0	0
13	0	1	0	0
14	1	0	0	0
15	0	0	0	0
<b>Grup M</b>				
16	0	0	0	0
17	0	0	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0
<b>Grup MR</b>				
22	0	1	0	0
23	0	1	0	0
24	0	1	0	0
25	0	1	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0

## **TARTISMA**

Çalışmamızda intratekal yolla uygulanan ropivakainin analjezik etkisini, midazolamın arttırdığını, histopatolojik olarak nörotoksisite oluşturmadığını ve ayrıca midazolamın literatürde de bildirildiği gibi analjezik etkisinin olduğunu saptadık.

Nörotoksikolojik çalışmalarda denek olarak rat, tavşan, köpek ve koyunlar kullanılmaktadır. Bu hayvanlar arasında anatomik olarak belirgin farklılıklar olmakla birlikte, nörofizyolojik olarak, tentoryumun altındaki seviyelerinde önemli farklılıklar olmadığı bildirilmiştir (52). İntratekal ilaç etkilerini değerlendirmede, insanlara en yakın anatomik özelliklere sahip olan koyun ve köpeklerin daha uygun modeller olduğu bildirilmekle beraber (61,62), bu hayvanların yetiştirilmesi ve bakımları için özel laboratuvar donanımları gereklidir. Ayrıca yüksek maliyetlere gereksinim vardır. Sınırlı bir subaraknoid aralığa sahip olan ratlarda intratekal uygulamaların güç olabileceği bildirilmekle birlikte, birçok çalışmada ilaçların spinal düzeydeki etkilerini göstermede uygun denekler olduğu belirtilmiştir (39,63-67). Araştırmamızda intratekal uygulanan ropivakain ve midazolamın analjezik etkinliğini ve spinal kord üzerine histopatolojik etkilerini değerlendirmek için, kolay elde edilmeleri ve özel donanımlı laboratuvar koşullarına gereksinimleri olmamaları nedeniyle Wistar türü ratları seçtik.

Yaksh ve Rudy (58), bir ilacın subaraknoid aralığa uygulanmasının, spinal düzeydeki etkilerini değerlendirmede en uygun yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Bu yolla, direkt olarak spinal kordun farmakolojik ajanla teması sağlanmış olmaktadır. Yaksh ve Rudy (58), rat ve tavşanlarda anestezi uygulanmasına gerek olmadan, tekrarlayan dozlarda ilaç solüsyonlarının, spinal subaraknoid boşluğa verilmesine olanak sağlayan bir yöntem geliştirmişlerdir. Daha sonraları Bahar ve Rosen (68), atlantookspital membrandan ponksiyon yoluyla PE bir kateterin lumbar genişlemeye ilerletilmesiyle (8.5cm) gerçekleştirilen bu yöntemi değerlendirdikleri çalışmalarında, uyanık ve hareketli deneklerde ilaçların spinal etkilerini değerlendirmede değerli bir yöntem olduğunu ve her ne kadar insanlardaki uygulanan spinal uygulamalardan farklı olsada olası problemleri örneklemede yeterli olduğunu bildirmişlerdir.

Yaksh ve Rudy (58) ağırlıkları 350-400 gr arasında değişen Holtzman ratlara uyguladıkları kateterizasyonlar sonrasında, biri dekanülasyon (%10) diğeri motor fonksiyonda kayıp (%15) olmak üzere iki sorunla karşılaştıklarını bildirmişlerdir. Farklı intratekal kateterizasyon yöntemlerini değerlendiren Storkson ve ark.(69) ise çalışmalarında ağırlıkları 290-340 gr arasında değişen 40 adet Sprague-Dawley rata atlantookspital membrandan dış çapı 0.6 mm olan PE bir kateter yerleştirerek, kaudale doğru 8.5 cm ilerletmişler ve iki deneğin ilk iki günde öldüğünü, onbir denekte ise ilk bir hafta içinde nörolojik komplikasyonlar oluştuğunu gözlemişlerdir. Bu bulgularla ratlarda atlantookspital membrandan kateter yerleştirilmesinin yüksek oranda spinal kordda hasarlanma oluşturduğunu ve intratekal kanamaya neden olduğunu belirtmişlerdir. Aldrete ve ark.(70) santral yolla ilaç uygulamaları sonrası gelişen paraplejinin, spinal kordun basıya uğraması veya travmatize edilmesi, uygulanan ilacın nörotoksitesisi ve spinal kord iskemisi (hipotansiyon, anterior spinal arter travması veya spazmı) nedeniyle olabileceğini bildirmişlerdir. Korkmaz ve ark. (59) araştırmalarının ön deney aşamasında 8 ratın 5 tanesinin atlantookspital membrandan kateter takılması sonrasında ilk saatler içinde ölmesi ve 3 ratta ise motor fonksiyonlarında kayıp gözlenmesi üzerine ölen deneklere otopsi uygulamışlar. Yapılan otopsilerinde ratların beyin sapında geniş kanama odakları olduğunu görmüşler ve ayrıca otopsiler sırasında ratların atlas ve aksis aralığının altında spinal kordun servikal genişlemesinin yer aldığını gözlemişlerdir. Böylece kateterin bu aralıktan yerleştirilmesinin komplikasyonları azaltabileceğini düşünerek, atlantoaksiyal membrandan takmışlardır. Çalışmamızda bu nedenle Korkmaz ve ark (59) tanımladığı yöntemle atlantoaksiyal membran yoluyla intratekal kateter yerleştirdik.

Chiari ve ark. (66) ile Bahar ve ark. (68), deneklerin intratekal kateterizasyona uyum sağlaması ve derlenmesi için cerrahi işlemler sonrası en az 5 gün hiçbir uygulama yapılmaması gerektiğini bildirmişlerdir. Kateterizasyon sonrası deneklerin derlenmesini, aksamadan ve aralıksız olarak yürüebilmesi, beslenme alışkanlığını normal olarak sürdürebilmesi olarak tanımlamışlardır. Bizim çalışmamızda da deneklerin derlenmesi ve kateterlerine uyumlarının gözlenmesi amacıyla cerrahi işlemi izleyen 5 gün içinde hiçbir uygulama yapılmadı.

Deneysel çalışmalarda nosiseptif yanıtların değerlendirilmesi farklı şekillerde yapılmaktadır (71). Tail-flick, hot-plate testlerinde ısı ile ağrı oluşturulurken Writhing testinde bir kimyasal iritan maddenin periton içine uygulanması ile ağrı oluşturulmaktadır. Bu testlerde gözlenen yanıtların, santral sinir sistemi ile ilişkisi azdır ve daha çok ağrı eşiği ile ilgili bilgi vermektedirler (72). Tail-flick testinin termal ağrı ölçümleri ve analjezik ilaçların farmakolojik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda yararlı olduğu bildirilmiştir (53). Tail flick cevabı spinal kord tarafından düzenlenir (73). Çalışmamızda tail-flick testi, diğer ağrı modellerinden farklı olarak hayvanın ağrıya yanıtının kolayca gözlemlenebilmesi ve elde edilen verilerin zaman ile ilişkilendirilebilmesi nedeniyle tercih edilmiştir.

Çalışmamızda 50 µg intratekal ropivakainin analjezik etkisinin 20 µg intratekal midazolam ile arttığı bulundu. Abdominal cerrahi geçiren hastalarda abdominal visseral ağrıyı önlemek için epidural olarak bolus (74) ya da sürekli (80) verilen bupivakainin analjezik etkinliğini midazolamın arttırdığı gösterilmiştir. İnsanlarda bupivakaine intratekal 1 ya da 2 mg midazolamın eklenmesi hemoroidektomi sonrası postoperatif analjezi süresini 2 ile 4.5 saat uzatmıştır. Bu sonuca göre intratekal midazolamın etkisinin doz bağımlı olduğu düşünülmüştü. Ayrıca midazolam gruplarındaki hastalarda cerrahiden sonraki ilk 24 saatde analjezik gereksinimi azalmıştır (81). Bharti ve ark. (82) alt batin cerrahisinde kombine spinal epidural teknikle 3 ml %0.5 hiperbarik bupivakaine intratekal 1 mg midazolam eklenmesinin, intoperatif anestezi ve analjezi kalitesini arttırdığını ve motor blok süresini uzatarak yan etkileri arttırmaksızın postoperatif analjezi süresini uzattığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda rotarod testini kullanma nedenimiz intratekal verilen midazolamın yapacağı olası motor koordinasyon ve sedasyonu ölçmektir. Hayvan modellerinde motor koordinasyon ve sedasyonu belirlemek için rotarod ve beam walking yöntemi gibi testler kullanılmaktadır. Pahalı olmayan teçhizatı, basit onaylı protokolleri ve tutarlı sonuçlar sağlaması rotarod testinin üstünlükleridir (55). Stanley ve ark. (55); beam walking yönteminin, motor koordinasyon defisitlerini belirlemede rotaroda göre daha sensitif olduğunu, beam walking testi boyunca alınan ölçümlerde, yapılan ayak kayma sayısı, görevi tamamlama zamanı ya da düşme sayısından daha sensitif olduğunu bildirmiştir. Bizde hayvan modellerinde motor koordinasyon ve sedasyonu belirlemek için yaygın kullanılan (55) rotarod testini kullandık. Çalışmamızda intratekal verilen 20 µg midazolamın belirgin

sedasyon yaptığını saptadık. Literatürde bu konuda çelişkili açıklamalar vardır. Bahar ve ark.'nın (9) çalışmasında 75 µg intratekal midazolam sonrası ratlarda sedasyon gözlenmiştir. Nishiyama ve ark. (74), insanlarda epidural yoldan verilen bupivakain+midazolam kombinasyonun, dozla ilişkili çenenin öne kaldırılması ihtiyacı duyulacak kadar sedasyon gelişebileceğini bildirmişlerdir. Nishiyama ve ark. (75) yine farklı bir çalışmalarında ise 100 µg intratekal midazolam ile ratlarda sedasyon gözlememişlerdir.

Çalışmamızda 50 µg intratekal ropivakainin SF grubu ile kıyaslandığında tail-flick testi ölçümlerine göre analjezik etkinliği olduğu da bulundu. Kristensen ve ark. (76) ratlarda yaptıkları bir çalışmada doppler flowmetre tekniği ile 50 µg intratekal ropivakainin ilaç verilmesinden 10 dakika sonra spinal kord kan akımında minor ve geçici bir azalma olduğunu ama bu azalmanın salin grubuyla anlamlı bir fark oluşturmadığını, 200 µg intratekal ropivakainin ise ilacın verilmesinden 5 dakika sonra 20-40 dakika süren spinal kord kan akımında yaklaşık %55 oranında geri dönüşümlü olarak azalma meydana geldiğini bulmuşlardır. Kristensen (76) spinal kord kan akımındaki bu azalmanın iki önemli olaya neden olabileceğini; bunlardan en önemlisinin kalıcı nörotoksikolojik hasar yapabileceğini ikinci olarak ise oluşan vazokonstriksiyonla normal nöronal transmisyonun deprese olacağını böylelikle anesteziğin ortaya çıkacağını belirtmiştir. Spinal ve epidural anestezide bupivakain difüzyonla spinal dorsal boynuz nöronlarına ulaşır ve sodyum kanallarını bloke eder ve hızlı bir şekilde potasyum akımı da inaktive edilir. Böylelikle ağrının transmisyon fazı inaktive edilir (77). Çalışmamızda ropivakain grubu midazolam grubuna göre analjezik etkinlik açısından daha etkin bulundu.

Çalışmamızda 20 µg intratekal midazolamın SF grubu ile kıyaslandığında, tail-flick testi ölçümlerine göre literatürde de bildirildiği gibi analjezik etkinliği olduğu da bulundu. Bu analjezik etkinlik, ropivakain ve midazolam+ropivakain alan deneklerle kıyaslandığında düşük etkinlikte bulundu. Midazolamın, son yıllarda hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda santral yolla verildiğinde ağrıyı önlemede etkili olduğu bildirilmiştir (8-13). Rattan ve ark. (79) ratlarda yaptıkları çalışmada intratekal 10 µg gibi düşük midazolam dozlarının, spinal opioid reseptörlere bağlanarak antinöseptif etkisi olduğunu, bu etkisini en fazla κ sonra δ en az da µ reseptörleri ile etkileşerek yaptığını bildirmişlerdir. Yine Serrao ve ark. (44)'da midazolamın spinal korddaki µ reseptörleri dışında büyük bir olasılıkla κ

opioid reseptörleri aracılığıyla, opioid reseptörlerini etkileyerek analjeziye sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Yanez ve ark. (12) ratlarda 20-60 µg intratekal midazolamın termal ağrıda doz bağımlı antinosiseptif etkisi olduğunu ve yüksek dozlarda (60-100 µg) motor disfonksiyon yaptığını bildirmiştir. Midazolam, GABA<sub>A</sub> reseptör kompleksini etkileyip Cl<sup>-</sup> geçirgenliğini artırarak etkisini gösterir. Böylece hiperpolarize durumda kalan hücrede nöronal uyarılma olmaz (6), böylece spinal kordda glutamat salınımı azalır. Ağrının transmisyon ve persepsiyonu azalır (13). Primer afferentlerin presinaptik inhibisyonunda GABA'erjik sistem önemli bir rol oynar. Benzodiazepin reseptör agonistleri; spinal kordda Cl<sup>-</sup> iletkenliğini arttırarak benzodiazepin reseptörleri ile GABA<sub>A</sub> reseptörlerini bağlayarak GABA'nın etkisini arttırır ve bu olay spinal kordda glutamat salınımını azaltır. İntratekal midazolam GABA reseptörleri üzerinden rol oynar ve geri dönüşümlü segmental antinosiseptif etki gösterir (11). Bir diğer görüşe göre ise spinal korddaki tipik benzodiazepin-GABA reseptör kompleksini etkileyerek analjezi oluşturur (8).

Coombs ve Fratkin (83) ışık mikroskobu ile yaptıkları nörotoksikoloji çalışmalarında sadece intratekal kateter varlığından dolayı hemoraji, fibrozis, lenfosit infiltrasyonu ve gliozis gibi histopatolojik bulguların görülebileceğini belirtmişlerdir. Ratlarda kronik intratekal kateterizasyonun (14 gün) etkilerini değerlendiren Sakura ve ark. (84) spinal kordda hasarlanmaların oluşabileceğini ve ışık mikroskobunda histopatolojik bulguların görülmesine neden olabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmamızda spinal kordun dört ayrı seviyesinden alınan örnekler ışık mikroskobu düzeyinde değerlendirildi. Örneklerin hiçbirinde inflamasyon, fibrozis, demyelinizasyon ve gliozis bulguları gözlemlenmedi. Yedi denekten alınan kesitlerde kanama odakları görüldü. Bu kanamalar Grup R'den 11. deneğin torakal, 13. deneğin alt servikal, 14. deneğinde üst servikal ve Grup MR'daki dört deneğin alt servikal kesitinde (22, 23, 24 ve 25. denekler) gözlemlendi. Çalışmamızda bulgularımızı değerlendirdiğimizde spinal kord kesitlerindeki histopatolojik gözlemlerin ilaç uygulanması ile bağlantılı olmadığını, uzun süreli kateter varlığıyla ilişkili olabileceğini düşündük. Çünkü, Malinovsky ve ark. (60) çalışmasına göre bir ilacın histopatolojik olarak nörotoksik olması için; alınan dört seviyedeki kesitlerin hepsinde histopatolojik skorun Grade 2 yani gri cevherde belirgin nekroz, büyük hemoraji veya yaygın demyelinizasyon, fibrozis ve inflamatuvar hücre varlığının görülmesi gerekmektedir. Ciddi nörolojik sekel lokal anestezinin spinal uygulanmasından sonra bildirilmiştir (85). Malinovsky ve arkadaşları (86) tavşanlarda lumbar



intratekal kateter yolu ile %0.2 -2'lik dozlarda iki hafta süresince tek doz ropivakain vermişler ve SF ve %5'lik lidokain grubuyla karşılaştırmışlardır. 7 gün sonra ropivakain alan grupta nörotoksisiteye rastlanmazken, lidokain alan grupta klinik ve histopatolojik değişiklikler olmuştur. Çalışmamızdaki ropivakain alan deneklerde nörotoksisiteye rastlanmamıştır.

Midazolamın intratekal uygulaması ile ilgili nörotoksisite açısından literatür de çelişkili açıklamalar vardır. Tavşan ve ratlarda 20 gün boyunca 100 µg/gün veya tek seferde 300 µg gibi yüksek dozda verilmesinin spinal korda zarar verdiği bildirilmiştir (60,87). Uğur ve ark. yaptıkları bir çalışmada tavşanlara intratekal kateterle tek doz 300 µg midazolam vermişler, 24 saat ve 6 gün sonra spinal kordu elektron mikroskobu ile incelemişler. Aksonların myelinde ve nöronlarda histolojik olarak nörotoksisite bulgularına rastlamışlardır (88). Nörotoksisite ilaca bağlı olabileceği gibi ilacın içindeki koruyucu maddeye de bağlı olabilir. Avrupa ülkelerinde midazolamın hidroklorid preparatı kullanırken, Amerika Birleşik Devletlerinde sulfat ve benzoat preparatları kullanılmaktadır. Sulfat ve benzoat içeren midazolam preparatları nörotoksik olduğu için intratekal kesinlikle kullanılmamalıdır (89). Yaksh ve Rudy kateterin spinal kordaki hasarı yanında enjeksiyona ayrıca fiziksel basınç veya lipid çözünürlüğü veya vazokonstriktif etkilerle birtakım hasara yol açabileceğini bildirmişlerdir (58).

Diğer taraftan kedilerde midazolamın direk olarak spinal korda 10 mg gibi yüksek doz uygulanması spinal kordda hiçbir histolojik değişikliğe neden olmamıştır (90). Yine Johansen ve arkadaşları yakın zamanda koyunlarda ve domuzlarda yaptıkları çalışmada, günlük 5-15 mg olacak şekilde uzun süre devamlı intraspinal midazolam infüzyonu vermişler ve herhangi bir doku toksisitesine neden olmadığını bildirmişlerdir (91). Tucker ve arkadaşlarının 547 hasta üzerinde, postoperatif bir ay boyunca hastaların incelenmesi ile yaptıkları çalışmada 2 mg intratekal midazolam verilmesinin nörolojik veya ürolojik komplikasyon geliştirme riskini arttırmadığını bildirmişlerdir (92).

Histopatolojik bulguların yokluğu bir ilacın olası nörotoksik etkiden yoksun olduğunu göstermede, yalnız başına yeterli değildir. Histopatolojik değerlendirmeleri ve spinal kord kan akımındaki değişiklikleri birlikte araştıran çalışmaların yapılması uygundur. Bununla beraber,

nöropatolojik değerlendirmeler, bir ilacın klinik olarak uygulanmasından önce güvenilirliğinin gösterilmesinde duyarlı bir adımdır.

Sonuç olarak bu araştırmada intratekal uygulanan midazolamın intratekal yolla uygulanan ropivakainin analjezik etkisini arttırdığını ve histopatolojik olarak nörotoksisite bulgularına neden olmadığı saptandı.

## **SONUC ve ÖNERİLER**

Ratlarda yaptığımız bu çalışma ile, intratekal uygulanan 20 µg midazolamın intratekal yolla uygulanan 50 µg ropivakainin analjezik etkisini arttırdığını ve histopatolojik nörotoksisite bulgularına neden olmadığı saptandı.

İntratekal midazolam, lokal anesteziyelere adjuvan olarak uygulanan alternatif bir ilaç olabilir. Böylelikle her iki ilaç daha düşük dozlarda kullanılırlar. Daha düşük dozda kullanılmaları ile daha az toksik olmaları muhtemeldir. Bununla birlikte, insanlar için kullanımı önerilmeden önce, tüm nörotoksikolojik değerlendirmelerin, değişik hayvan örneklerinde farklı doz ve uygulama rejimleri ile gerçekleştirilmesi gereklidir.

## **KAYNAKLAR**

1. Van Kleef J, Veering Bt, Burn AG. Spinal anesthesia with ropivacaine: a double-blind study on the efficacy and safety of 0,5% and 0,75% solutions in patients undergoing minor lower limb surgery. *Anesth Analg* 1994;78:1125-1130
2. McDonald SB, Liu SS, Kopacz DJ, Stephenson CA. Hyperbaric spinal ropivacaine: a comparison to bupivacaine in volunteers. *Anesthesiology* 1999;90:971-977
3. Gautier PE, De Kock M, Van Steenberge A, et al. Intrathecal ropivacaine for ambulatory surgery: A comparasion between intrathecal bupivacaine and ropivacaine for knee surgery. *Anesthesiology* 1999;91:1239-1245
4. Brockway MS, Bannister J, McClure JH, McKeown D, Wildsmith JA. Comparison of extradural ropivacaine and bupivacaine. *Br J Anaesth.* 1991;66:31-37
5. Polley LS, Columb MO, Naughten NN, Wagner DS, vanden Ven CJ. Relative analgesic potancies of ropivacaine and bupivacaine for epidural analgesia in labour: implications for therapeutic indexes. *Anesthesiology* 1999;90:944-950
6. Miller RD, Reves JG, Glass PSA, Lubarsky DA. Nonbarbiturate intravenous anesthetics. In: *Anesthesia.* Fourth edition. USA, 1994; 247-290
7. Kayhan Z. İntravenöz Anestezikler: Klinik Anestezi. 3. Baskı, İstanbul, Logos Yayıncılık Tic. A.Ş. 2004,110-113
8. Edwards M, Serrao JM, Gent JP, Goodchild CS. On the mechanism by which midazolam causes spinaly mediated analgesia. *Anesthesiology* 1990;73:273-277
9. Bahar M, Cohen ML, Grinshpon Y, Chaminov M: Spinal anaesthesia with midazolam in the rat. *Can J. Anaesth* 1997;44:208-215
10. Serrao JM, Stubbs SC, Goodchild CS, et al. Intrathecal midazolam and fentanyl in the rat: evidence for different spinal antinociceptive effects. *Anesthesiology* 1989;70:780-786
11. Nishiyama T, Hanaoko K. Midazolam can potantiate the analgesic effets of intrathecal bupivacaine on thermal- or inflamatuary- induced pain. *Anesth Analg* 2003;96:1386-1391
12. Yanez A, Sabbe MB, Stewens CW, Yaksh TL. Interaction of midazolam and morphine in the spinal cord of the rat. *Neuropharmacology* 1990;29:359-364
13. Nishiyama T, Gyermek L, Lee C, et al. Synergistic analgesic effects of intrathecal midazolam and NMDA or AMPA receptor antagonists in rats. *Can J. Anaesth* 2001;48:288-294

- 14.Holdgson PS, Neal JM, Pollock JE, Liu SS. The neurotoxicity of drugs given intrathecally (spinal). *Anesth Analg* 1999;88:797-809
- 15.Kayhan Z. Ağrı. In: Klinik anestezi. 2.Baskı. İstanbul. Logos yayıncılık. 1997:759-786
- 16.Benjamin WJ. Pain mechanism: Anatomy, physiology, and neurochemistry. In: P. Prithvi R.(ed). *Practical management of pain*. Third edition. St. Louis, Mosby; 2000:117-143
- 17.Raj PP. Ağrı taksonomisi. In: Erdine S. (ed). Ağrı. 1. Baskı. İstanbul, Nobel Kitabevi; 2000:12-19
- 18.Heavner JE, Willis WD. Pain pathways: anatomy and physiology. In: P. Prithvi R.(ed). *Practical management of pain*. Third edition. St. Louis, Mosby; 2000:107-115
- 19.Devor M. Sinir hasarıyla ilişkili ağrı mekanizmaları. In: Erdine S.(ed). 1. Baskı. Ağrı. İstanbul, Nobel kitabevi; 2000:30-39
- 20.Dickenson AH. Spinal cord pharmacology of pain. *Br J Anaesth*. 1995;75:193-200
- 21.Erdine S. Ağrı mekanizmaları. In:Ağrı. 1. Baskı. İstanbul, Nobel kitabevi; 2000:20-29
- 22.Aydınlı I. Analjezik kullanım ilkeleri. In: Erdine S.(ed) Ağrı. 1.Baskı. İstanbul, Nobel kitapevi; 2000:479-484
23. O'Sullivan S, Hill CH. The story of spinal anesthesia -offering patients pain relief without undergoing general anesthesia. *Monitor, Newsletter of the New York State Society of Anesthesiologists, Inc.* 1998 Fall.
- 24.LaMotte C, Pert C, Synder S. Opiate reseptor binding in primate spinal cord: distribution and changes after dorsal root section. *Brain Research* 1976;112:407-412
- 25.Erdine S. İntraspinal analjezikler. In: Ağrı. 1.Baskı. İstanbul, Nobel kitapevi; 2000:625-641.
- 26.Staas PS, Dougherty PM. Spinal analgesics: present and future. In: P.Prithvi R.(ed). *Practical management of pain*. Third edition. St.Louis, Mosby; 2000:513-522
- 27.Butterworth JF, Strichartz G. Molecular mechanisms of local anesthesia: A Review. *Anesthesiology* 1990;72:711-734
- 28.Lynch C, Pancrazio JJ. Snails, spider and stereospecificity- Is there a role for calcium channels in anesthetic mechanism? *Anesthesiology* 1994;81:1-5
- 29.Omote K, Kawamata M, Satoh O, Iwasaki H, et al. Spinal antinociceptive action of an N-Type Voltage-dependent calcium channel blocker and synergistic interaction with morphine. *Anesthesiology* 1996;84:636-643

30. Choe H, Kim JS, Ko SH, Kim DC, Han YJ, Song HS. Epidural verapamil reduces analgesic consumption after lower abdominal surgery. *Anesth Analg* 1998;86:786-790
- 31.Coderre TJ, Empel IV. The utility of excitatory amino acid(eaa) antagonists as analgesic agents I. Comparison of the antinociceptive activity of various classes of eaa antagonists in mechanical, thermal and chemical nociceptive tests. *Pain* 1994;59:345-352
- 32.Murray CW, Cowan A, Larson AA. Neurokinin and NMDA antagonists (but not a kainic acid antagonist) are antinociceptive in the mouse formalin model. *Pain* 1991;44:179-185
- 33.Serrao JM, Marks RL, Morley SJ, Goodchild CS. Intrathecal midazolam for the treatment of chronic mechanical low back pain: a controlled comparison with epidural steroid in a pilot study. *Pain* 1992;48:5-12
- 34.Albright AL, Barron WB, Fasick MP, Polinko P, et al. Continuous intrathecal baclofen infusion for spasticity of cerebral origin. *JAMA* 1993;270:2475-2477
- 35.Cousins MJ, Mather LE. Intrathecal and epidural administration of opioids *Anesthesiology* 1984;61:276-310
- 36.Eisenach JC, DuPen S, Dubois M, Miguel R, et al. Epidural clonidine analgesia for intractable cancer pain. *Pain* 1995;61:391-399
- 37.Coombs DW, Saunders RL, Fratkin JD, Jensen LE, et al. Continuous intrathecal hydromorphone and clonidine for intractable cancer pain. *J Neurosurg* 1986;64:890-894
- 38.Hood DD, Eisenach JC, Turtle R. Phase I safety assesment of intrathecal neostigmine mehylsulphate in humans. *Anesthesiology* 1995;82:331-343
39. Gaumann DM, Yaksh TL. Intrathecal somatostatin in rats: Antinociception only in the presence of toxic effects. *Anesthesiology* 1988;68:733-742
- 40.Mollenhot P, Rawal N, Gordh T, Olsson Y. Intrathecal and epidural somatostatin for patients with cancer. *Anesthesiology* 1994;81:534-542
- 41.Oku R, Satoh M, Takagi H. Release of substance P from the spinal dorsal horn is enhanced in polyarthritic rats. *Neuroscience Letters* 1987;74:315-319
- 42.Leslie JB, Watkins D, Eicosanoids in the central nervous system. *J Neurosurg* 1985;63:659-668
- 43.McClure JH. Ropivacaine. *Br J Anaesth.* 1996;76: 300-307
- 44.Serrao JM, Gent JP, Goodchild CS. Nalaxone antagonizes the spinal analgesic effects of midazolam. *Br J Anaesth.* 1989;62:233-234

- 45.Yentis SM, Hirsch NP, Smith GB. Ropivacaine Anesthesia and Intensive Care A to Z. 2<sup>nd</sup> edition. London. Butterworth-Heinemann. 2000, 481
- 46.Feldman HS, Arthur GR, Pitkanen M, et al. Treatment of acute systemic toxicity after the rapid intravenous injection of ropivacaine and bupivacaine in the conscious dog. *Anesth Analg* 1991; 73:373-384
- 47.Arthur GR, Feldman HS and Covino BG. Comparative pharmacokinetics of bupivacaine and ropivacaine, a new amide local anesthetic. *Anesth Analg* 1988;67:1053-1058
- 48.Kayhan Z: Lokal Anestezikler: Klinik Anestezi. 2. Baskı, İstanbul, Logos Yayıncılık Tic. A.Ş. 1996,373-378
- 49.Morgan GE, Mikhail MS: Lokal Anesthetics: Clinical Anesthesiology. 2<sup>nd</sup> edition, London, Appleton&Lange. 1996,193-200.
- 50.Moller R, Covino BG. Cardiac electrophysiologic properties of bupivacaine and lidokaine compared with those of ropivacaine, a new amide local anesthetic. *Anesthesiology* 1990;72:322-329
- 51.Öztekin S: Lokal Anestezikler: Elar Z (ed), Klinik Anestezi El Kitabı (çev). 1. Baskı, İstanbul, Logos Yayıncılık Tic. A.Ş.1999, 151-162
- 52.Myers RR, Sommer C. Methodology for spinal neurotoxicity studies. *Reg Anesth.* 1993;18:439-447
- 53.Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal Models of Nociception. *Pharmacol Rev* 2001;53:597-652
- 54.Hole K, Tjolsen A. The tail-flick and formalin tests in the rodents: changes in skin temperature as a confounding factor. *Pain* 1993;53:247-254
- 55.Stanley JL, Lincoln RJ, Brown TA, McDonald LM, et al. The mouse beam walking assay offers improved sensitivity over the mouse rotarod in determining motor coordination deficits induced by benzodiazepines. *Journal of Psychopharmacology* 2005;19:221-227
- 56.Wingerd BD. Rat dissection manual. The Johns Hopkins University Press.Baltimore, London. 1999:5-40
- 57.Sharp PE, La Regina MC. The Laboratory Animal Pocket Reference Series: The Laboratory Rat. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1998:12-13
- 58.Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiology Behavior* 1976;17:1031-1036

- 59.Korkmaz HA, Maltepe F, Erbayraktar S, Yılmaz O, et al. Antinociceptive and neurotoxicologic screening of chronic intrathecal administration of ketorolac tromethamine in the rat. *Anesth Analg* 2004;98:148-152
- 60.Malinovsky JM, Cozian A, Lepage JY, Mussini JM, et al. Ketamin and midazolam neurotoxicity in the rabbit. *Anesthesiology* 1991;75:91-97
- 61.Rawal N, Nuutien L, Raj P, Lovering S, et al. Behavioral and histopathologic effects following intrathecal administration of butorphanol, sufentanyl and nalbuphine in sheep. *Anesthesiology* 1991;75:1025-1034
- 62.Gallivan ST, Johnston SA, Broadstone RV, Jortner BS, et al. The clinical, cerebrospinal fluid and histopathologic effects of epidural ketorolac in dogs. *Veterinary Surgery* 2000;29:436-441
- 63.Yaksh TL, Grafe MR, Malkmus S, Rathbun M, et al. Studies on the safety of chronically administered intrathecal neostigmine metylsulfate in rats and dogs. *Anesthesiology* 1995;82:412-427
- 64.Karlsten R, Gordh T, Svensson BA. A neurotoxicologic evaluation of the spinal cord after chronic intrathecal injection of R-phenylisopropyl adenosine (R-PIA) in the rat. *Anesth Analg* 1993;77:731-736
- 65.Gordh T, Post C, Olsson Y. Evaluation of the toxicity of subarachnoid clonidine, guanfacine and a substance P-antagonist on rat spinal cord and nerve roots: Light and electron microscopic observations after chronic intrathecal administration. *Anesth Analg* 1986; 65:1303-1311
- 66.Chiari A, Yaksh TL, Myers RR, Provencher J, et al. Eisenach JC. Preclinical toxicity screening of intrathecal adenosine in rats and dogs. *Anesthesiology* 1999;91:824-832
- 67.Svensson BA, Alari L, Post C. Repeated intrathecal injections of dezocine produce antinociception without evidence for neurotoxicity in the rat: A study of morphometric evaluation of spinal cord histology. *Anesth Analg* 1992;75:392-399
- 68.Bahar M, Rosen M, Vickers MD. Chronic cannulation of the intradural or extradural space in the rat. *Br J Anaesth.* 1984;56:405-410
- 69.Storkson RV, Kjørsvik A, Tjolen A, Hole K. Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 1996;65:167-172
- 70.Aldrete JA, Vascello LA, Ghaly R, Tomlin D. Paraplegia in a patient with an intrathecal catheter and a spinal cord stimulator. *Anesthesiology* 1994; 81:1542-1545



- 71.Miranda HF, Bustamente D, Kramer V, Pelissier T, et al. Antinociceptive effects of  $Ca^{+2}$  channel blockers. *European Journal Pharmacology* 1992;217:137-141
- 72.Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, et al. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51:5-17
- 73.Nishiyama T, Hanaoka K. Intrathecal clonidine and bupivacaine have synergistic analgesia for acute thermally or inflammatory-induced pain in rats. *Anesth Analg* 2004;98:1056-1061
- 74.Nishiyama T, Hirasaki A, Odaka Y, Mikane T, et al. Epidural midazolam with bupivacaine: optimal dose for postoperative pain relief. *Masui* 1992;41:1113-1118 (Abstract)
- 75.Nishiyama T, Gyermek L, Lee C. Analgesic interaction between intratecal midazolam and glutamate receptor antagonists on thermal-induced pain in rats. *Anesthesiology* 1999;91:531-537
- 76.Kristensen JD, Karlsten R, Gordh T. Spinal cord blood flow after intrathecal injection of ropivacaine: A screening for neurotoxic effects. *Anesth Analg* 1996;82:636-640
- 77.Olschewski A, Hempelmann G, Vogel W. Blockade of  $Na^{+}$  and  $K^{+}$  currents by local anesthetics in the dorsal horn neurons of the spinal kord. *Anesthesiology* 1998;88:172-179
- 78.Kallio H, Snall EVT, Kero MP, Rosenberg PH. A comprasion of intrathecal plain solutions containing ropivacaine 20 or 15 mg versus bupivacaine 10 mg. *Anesth Analg* 2004;99:713-717
- 79.Rattan AK, McDonald JS, Tejwani GA. Differential effects of intrathecal midazolam on morphine-induced antinociception in the rat: role of spinal opioid receptors. *Anesth Analg* 1991; 73:124-131
- 80.Nishiyama T, Yokoyama T, Hanaoko K. Midazolam improves postoperative epidural analgesia wiht continuous infusion of local anesthetics. *Can J. Anaesth* 1998;45:551-555
- 81.Kim MH, Lee YM. Intrathecal midazolam increases the analgesic effects of spinal blockade with bupivacaine in patients undergoing haemorrhoidectomy. *Br J Anaesth.* 2001;86:77-79
- 82.Bharti N, Madan R, Mohanty PR, Kaul HL. Intrathecal midazolam added to bupivacaine improves the duration and quality of spinal anaesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 2003;47: 1101-1105
- 83.Coombs DW, Fratkin JD. Neurotoxicology of spinal agents. *Anesthesiology* 1987;66:724-726
- 84.Sakura S, Hashimoto K, Bollen AW, Ciriales R, et al. Intrathecal catheterization in the rat. *Anesthesiology* 1996;85:1184-1189

- 85.Rigler ML, Drasner K, Krejcie TC, Yelich SJ, et al. Cauda equina syndrome after continuous spinal anesthesia. *Anesth Analg* 1991;72:275-281
- 86.Malinovsky JM, Charles F, Baudrimont M, Pereon Y, et al. Intrathecal ropivacaine in rabbits: pharmacodynamic and neurotoxicologic study. *Anesthesiology* 2002;97:429-435
- 87.Svenson BA, Welin M, Gorth T Jr, Westman J. Chronic subarachnoid midazolam (dormicum) in the rat: morphological evidence of spinal cord neurotoxicity. *Regional Anesthesia* 1995;20:426-434 (Abstract)
- 88.Ugur B, Basaloglu K, Yurtseven T, Ates U, et al. Neurotoxicity with single dose intrathecal midazolam administration. *European Journal of Anaesthesiology* 2005;22:907-912
- 89.Cousins MJ, Miller RD. Intrathecal midazolam: an ethical editorial dilemma. *Anesth Analg* 2004;98:1507-1508
- 90.Nishiyama T, Matsukawa T, Hanaoka K. Acute phase histopathological study of spinally administered midazolam in cats. *Anesth Analg* 1999;89:717-720
- 91.Johansen MJ, Gradert TL, Satterfield WC, Baze WB, et al. Safety of continuous intrathecal midazolam infusion in the sheep model. *Anesth Analg* 2004;98:1528-1535
- 92.Tucker AP, Lai C, Nadeson R, Goodchild CS. Intrathecal midazolam I: A cohort study investigating safety. *Anesth Analg* 2004;98:1512-1520

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU


35340, İnciraltı, İzmir-232 277777-2254  
<http://tip.deu.edu.tr/etik/deneyetik/>

Sayı : 24  
Tarih : 27/02/2006  
Toplantı No : 06/04/02  
Toplantı Tarihi : 24/02/2006

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

02 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Doktorlarından Dr.Hacı BALKAYA'nın sorumlu olduğu; "Ratlarda termel ağrı modelinde intratekal ropivakainin analjezik etkilerine intratekal midozalamin etkisi" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi arz ederim.

  
Doç. Dr. Mustafa OLGUNER  
Deney Hayvanı Araştırmaları  
Etik Kurulu Başkanı