

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

**RATLARDA
İNTRASEREBROVENTRİKÜLER VERİLEN
ROKURONYUMUN SANTRAL SİNİR
SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE
EPİLEPTİK NÖBET OLUŞTURMA
DOZUNUN ARAŞTIRILMASI**

DR. MEHMET BAYKAL

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2007

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

**RATLARDA
İNTRASEREBROVENTRİKÜLER VERİLEN
ROKURONYUMUN SANTRAL SİNİR
SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ VE
EPILEPTİK NÖBET OLUŞTURMA
DOZUNUN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. MEHMET BAYKAL

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Atalay Arkan

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
KISALTMALAR.....	v
ÖZET.....	vi
SUMMARY.....	viii
GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
1. KAS GEVŞETİCİLERİN YAPI AKTİVİTE İLİŞKİSİ	3
2. ROKURONYUM.....	3
3. SANTRAL SİNİR SİSTEMİNDE NÖRONAL İLETİ.....	4
a. Otonom Sinir Sistemi.....	4
b. Asetilkolin Sentezi.....	5
c. Kolinerjik Agonistlerin Etki Mekanizması.....	5
d. Sinaptik İleti.....	6
e. Nörotransmitterler.....	7
4. BEYİN NİKOTİNİK ASETİLKOLİN RESEPTÖRLERİ.....	9
5. EPİLEPTİK NÖBET VE ASETİLKOLİN.....	10
6. RATLARIN BOS DEĞERLERİ.....	12
GEREÇ ve YÖNTEM.....	13
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	24
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	29
KAYNAKLAR.....	30
ETİK KURUL İZİN BELGESİ.....	34

TESEKKÜR

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 Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a,

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

Tez araştırmamın deneyleri sırasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Serhat Erbayraktar ve Prof. Dr. Osman Yılmaz'a,

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

Asistanlık döneminin stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız başta Dr. Alper Doğan ve Dr. Ömer Burak Küçükebe 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 değişmeyeceğim, hayatımı güzelleştiren ve anlam katan eşim Dr. Özlem Baykal, kızım Defne Baykal ve oğlum Onur Baykal'a

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr. Mehmet Baykal

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 Asetilkolin reseptörleri.....	10
Tablo 2 Ratların BOS değerleri.....	12
Tablo 3 Çalışmamızda kullanılan solusyonların pH'ları.....	16
Tablo 4 Ratların vücut ağırlıkları(Gram).....	20
Tablo 5 Grup Rokuronyum'da kullanılan rokuronyum bromid doz ve volümleri.....	20
Tablo 6 Grup Kontrol'de kullanılan Ringer laktat volümleri ve santral etkileri.....	21
Tablo 7 Santral etkilerin değerlendirilmesi (ikinci aşamadaki tüm gruplar).....	21
Tablo 8 Grup pH Kontrol santral etkileri.....	22
Tablo 9 Grup Rokuronyum 1/5'in santral etkileri.....	22
Tablo 10 Grup Rokuronyum 1/10'in santral etkileri.....	22
Tablo 11 Grup Rokuronyum 1/100'in santral etkileri.....	23

SEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Rokuronyum Bromidin Kimyasal Formülü.....	3
Şekil 2: Nöronal Nikotinik Asetilkolin Reseptörü.....	8
Şekil 3: Ratın Stereotaksi Cihazında Hazırlanması.....	14
Şekil 4: Rata İntraserebroventriküler Kanül Yerleştirilmesi.....	15
Şekil 5: Hamilton Enjektörü Ve İntraserebroventriküler Kanüller.....	17
Şekil 6: Metilen Mavisi İle İntraserebroventriküler Kanül Yerinin Doğrulanması.....	18

KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
nAchr	Nikotinik asetilkolin reseptörü
SSS	Santral sinir sistemi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
İSV	İntraserebroventriküler
Na⁺	Sodyum
K⁺	Potasyum
Ca⁺⁺	Kalsiyum
cAMP	Siklik Adenozin monofosfat
IP₃	İnositol trifosfat
DAG	Diçil gliserol
ATP	Adenozin trifosfat
GABA	γ -Amino bütirik asit
Cl⁻	Klor
NMDA	N-metil-D-aspartat

ÖZET

Ratlarda İntraserebroventriküler Verilen Rokuronyumun Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri ve Epileptik Dozunun Araştırılması

Dr. Mehmet Baykal, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon AD.; İzmir

Amaç: rokuronyum intravenöz uygulama sonucu beyinomurilik sıvısına geçmektedir. İnsan hatası sonucunda kaudal yoldan rokuronyum santral sinir sistemine verilmiştir. Literatürde rokuronyumun beyinomurilik sıvısındaki potansiyel etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, ratlarda intraserebroventriküler (İSV) verilen rokuronyumun santral sinir sistemi üzerine etkileri ve epileptik nöbet oluşturma dozunun araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra ağırlıkları 200-350 g arası değişen 18-24 aylık 36 adet dişi Wistar-Albino türü dişi rat kullanılarak gerçekleştirildi. Bütün ratlara lateral ventriküle ulaşmak amacıyla İSV kanül takıldı. Çalışma iki aşamalı olarak planlandı. İlk aşamada grup rokuronyum'a (n=6) rokuronyum bromid (10 µlitresi 0.016 mikromol) 5 µlitrelik bölünmüş dozlarda Hamilton enjektörü ile uygulandı. Her doz 60 saniyede enjekte edildi ve 60 saniye boyunca deneklerde etkisi gözlemlendi. Bu ratlarda tonik klonik nöbet oluştuğunda verilmiş olan toplam doz kaydedildi. İkinci aşamada elde edilen eşik değerinin 1/5, 1/10 ve 1/100 seyreltilmiş dozlarında sırasıyla grup 2 (n=6), grup 3 (n=6) ve grup 4 (n=6) oluşturuldu. Grup 2 ve 3'de ekstremitelerin postür alması, tüm vücutta kasılmalar, ajitasyon ve titremeler gözlenirken grup 4'de azalmış lökomotor aktivite gelişti. Grup 1 (n=6) rokuronyum solusyonu ile eşit pH'daki ringer laktat ile asetik asit karışımı pH etkisini değerlendirmek amacıyla deneklere 10 µlitre verildi. Grup içi karşılaştırmalarda Friedman bunu izleyen Wilcoxon testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis, bunu izleyen Mann-Whitney U testi ve Fisher Exact testi kullanıldı.

Bulgular: Grup Rokuronyumda, intraserebroventriküler rokuronyum bromidin (pH=3.6) nöbet eşik değeri 0.056 ± 0.009 µmol olarak bulundu. Toplam verilen volüm 35.0 ± 5.48 µlitre olarak saptandı. Ratların epileptik nöbet eşiği değeri ortalama ağırlıklarına oranlanarak 0.279 µmol/kg olarak hesaplandı. Nöbet eşiği dozunun 1/5 ile daha çok ekstremitelerin postür alması, tüm vücutta kasılmalar görülürken; nöbet eşiği dozunun 1/10'u ile ajitasyon ve titremeler gözlemlendi. Nöbet eşiği dozunun 1/100'ü ile azalmış lökomotor aktivite gelişti. Bu

dozlarda görülen etkiler yaklaşık 1 saat içinde giderek azaldı ve lokomotor aktive azalması şeklinde devam etti. 6 saatlik izlem yapıldı ve bu süre zarfında beslenme ve motor davranışları kontrol grubuna benzer hale geldi.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları, deneysel rat modelinde, rokuronyumun santral sinir sisteminde etkili olduğu göstermektedir. Doz ile ilişkili olarak eksitatör etkilerinin yanısıra epileptik nöbete neden olmaktadır.

SUMMARY

Investigation of Intracerebroventricularly Administered Rocuronium's Effects on Central Nervous System and Epileptic Dose in Rats

Dr. Mehmet Baykal, Dokuz Eylul University Medical Faculty, Department of Anesthesiology and Reanimation

Objective: Rocuronium can pass to CSF after intravenous administration. Rocuronium was given into central nervous system through caudal way accidentally. We couldn't find a study in the recent literature investigating the potential effects of rocuronium in CSF. The aim of this study was to investigate the effects of intracerebroventricularly administered rocuronium on central nervous system and to determine epileptic seizure producing dose of rocuronium in rats.

Method: After approval of Dokuz Eylul University Medical Faculty Laboratory Animals Research Ethics Committee, 200-350 g weighting, 18-24 months old 36 female Wistar-Albino rat was included in the study. A canula was placed intracerebroventricularly to all rats in order to reach lateral ventricle. The study was designed in two phases. At the first phase, Rocuronium bromid (0.016 μmol in 10 μliters) was administered by divided doses of 5 μliters using Hamilton syringe to Group Rocuronium (n= 6). Each dose was injected in 60 seconds and the effects on subjects were observed through 60 seconds. When tonic clonic seizures observed the total dose that was given to these rats was recorded. In the second phase, Group 2 (n= 6), Group 3 (n= 6), Group 4 (n= 6) were formed by using the doses of 1/5, 1/10 and 1/100 of the obtained threshold dose respectively. In the Group 2 and Group 3 extremity posture formation, contractions throughout the body, agitation and shivering was observed, whereas in the Group 4 locomotor activity lessening was observed. In Group 1 (n=6), 10 microliters of a mixture of Ringer lactate and acetic acid which was at the same pH with rocuronium solution was given to rats in order to examine the impact of pH. Statistical analysis was performed by Friedman and Wilcoxon test for comparing in group, and by Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U test and Fisher Exact test for comparing between groups.

Results: The seizure threshold value of intracerebroventricularly administered Rocuronium bromid (pH = 3.6) was found as $0.056 \pm 0.009 \mu\text{mol}$ in group rocuronium,. Totally administered volume was found as $35.0 \pm 5.48 \mu\text{liters}$. By rating epileptic seizure threshold value of the rats to their mean body weight was calculated as $0.286 \mu\text{mol/kg}$. At the dose of

1/5 of seizure threshold dose, mostly extremity posture formation and contractions throughout the body was observed, whereas at the dose of 1/10 of seizure threshold dose agitation and shivering was observed. At the dose of 1/ 100 of seizure threshold dose, locomotor activity lessening was developed. All these effects were decreased progressively approximately in 1 hour and persisted as decreased locomotor activity. The observation was continued for 6 hours and within this time feeding and motor behaviours of the rats became similar with the control group.

Conclusion: The finding of our study suggested that, rocuronium is effective on central nervous system in experimental rat model. Rocuronium can produce both excitatory effects and epileptic seizures as dose dependently.

GİRİS ve AMAC

Kas gevşeticiler, entübasyon, cerrahi kas gevşemesi sağlanmasının yanı sıra yoğun bakımda yatan hastalarda hasta-ventilatör uyumunu sağlamak, mekanik ventilasyonu kolaylaştırarak periferik oksijen kullanımını azaltmak ve intrakraniyal basıncın kontrolü gibi amaçlar için kullanılırlar. Bu ilaçlar bolus veya sürekli infüzyon halinde uygulanabilir (1,2).

Kas gevşeticiler kuvaterner amonyum bileşikleridir. Molekülün bu bölümündeki pozitif yükleri asetilkolinin (ACh) kuvarterner nitrojen atomunu taklit eder ve sinir kas kavşağındaki kolinerjik nikotik reseptörlere ilgisinin temel nedenidir (3). Bu reseptörler ACh'in fizyolojik olarak etkili olduğu otonomik gangliyonlar, otonom sinir sisteminin parasempatik, sempatik bölümleri ve diğer vücut bölümlerinde de bulunmaktadır (4).

Kas gevşeticiler santral sinir sisteminde (SSS) kolinerjik sinir iletimini nikotik asetil kolin reseptörü üzerinden etkiler. Doza bağlı aktivasyon veya inhibisyon görülebilmektedir (5). Nöronal nikotik asetilkolin reseptörleri (nAChR) SSS'de yaygın olarak bulunur ve kimyasal iletimde yer alırlar (6). Ratlarda SSS'deki nikotik asetilkolin reseptörleri bu bölgeye verilen kas gevşeticiler tarafından aktive edilmektedir. Beyinde predominant olan nAChR alfa₄ beta₂ subunitinin, kas gevşeticilerin etkisi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (5).

Kas gevşeticilerin nondepolarizan, iyonize ve dolayısıyla göreceli olarak düşük lipofilik özellikte olmalarına rağmen, intravenöz uygulanmaları sonrasında beyin omurilik sıvısına (BOS) geçtiği bilinmektedir (7). Yoğun bakımda uygulanan kas gevşeticilerin kümülatif dozları cerrahi işlemler sırasında uygulanan miktarları aşmaktadır (8).

Atrakuryum metaboliti olan laudanozinin kan beyin bariyerini geçtiği gösterilmiştir (9). Deneysel çalışmalarda yüksek dozlarda laudanozinin SSS stimülasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (9). Szenohradzky ve ark. (10) uyanık ratlarda yaptıkları çalışmalarında introserebroventriküler (İSV) verdikleri vekuronyum, pankuronyum ve atrakuryumun santral sinir sisteminde epileptik nöbet oluşturduğunu göstermişlerdir.

Fuchs-Buder ve ark. (6) insanlarda serebral anevrizma kliplenmesi operasyonlarında kas gevşemesini sağlamak için kullandıkları rokuronyum infüzyonunun BOS'a geçişini araştırdıkları çalışmalarında; BOS'a rokuronyumun geçtiğini saptamışlardır. Bu çalışmalar da gösteriyor ki; rokuronyum dahil kas gevşeticilerin kan beyin bariyerini aşarak BOS'a geçtiği bilinmektedir.

Kas gevşeticilerin yanlılıkla epidural, kaudal ve intratekal yoldan verildiğini bildiren yayınlar vardır (3,11-13). Bu şekilde verildiğinde miyotoni, otonomik değişiklikler, hatta

konvulsiyonlara neden oldukları bildirilmektedir (3,11-13). Kas gevşeticilerin yanlışlıkla BOS'a verildiği hastalar yoğun bakım ünitelerinde tedaviye alınmışlardır. Etik olarak insanda böyle bir araştırma yapılamayacağından bu konuda kısıtlı gözlemsel bilgiler mevcuttur.

Pubmed'de yaptığımız literatür taramasında kas gevşetici ajanların SSS etkileri ve epileptik özelliklerini araştıran deneysel çalışmalar olmakla birlikte steroid yapılı nondepolarizan kas gevşetici ajan olan rokuronyumun SSS etkilerini irdeleyen bir araştırmaya rastlanmamıştır.

AMAC

Bu çalışmada, ratlarda intraserebroventriküler verilen rokuronyumun epileptik nöbet oluşturma dozu ve santral sinir sistemi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

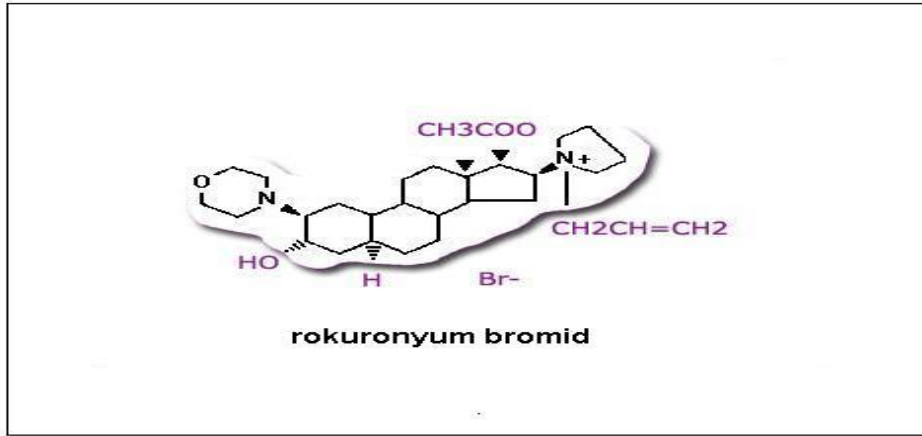
GENEL BİLGİLER

1. KAS GEVŞETİCİLERİN YAPI AKTİVİTE İLİŞKİSİ

Kas gevşeticiler, nöromusküler kavşaktaki nikotinik kolinerjik reseptörlere; yapılarının kuvaterner amonyum olması nedeni ile sahip oldukları kuvaterner azot üzerindeki pozitif yükleri ile ACh'nin kuvaterner azotunu taklit edip etki ederek iletiyi engellerler. En az bir pozitif yüklü nitrojen atomu ile postsinaptik kolinerjik reseptör alfa altünitesine bağlanır. Kas gevşeticilerin ACh'e benzer bölümleri olsa da iri ve rijit molekül yapıları nedeniyle kolinerjik reseptörleri inhibe ederler (14).

Pankuronyum biskuvarterner aminosteroid yapısı ile ACh'a en çok benzeyen kas gevşeticidir. Pankuronyumun ACh benzeri fragmanları steroidal molekülün yüksek düzeyde nöromuskuler bloke edici aktivitesini oluşturur. Vekuronyum ve rokuronyum, pankuronyumun monokuvarterner analoglarıdır (14).

2. ROKURONYUM



Şekil 1. Rokuronyum bromidin kimyasal formülü (4)

1994 yılında tanıtılan rokuronyum hızlı etki başlangıçlı, orta etki süreli aminosteroidal nondepolarizan bir kas gevşeticidir (15-17). Vekuronyumdan 7-8 kat daha az potenttir (15,17,18). Fakat vekuronyum ile hemen hemen aynı molekül ağırlığına sahiptir. Böylece daha çok sayıda ilaç molekülü reseptöre bağlanır ve daha hızlı kas gevşemesi gerçekleşir. Reseptörlere zayıf bağlanması ve potensinin düşük olması nedeniyle reseptörlerden kolaylıkla dışarı difüze olmaktadır. Bu da kas gevşetici etkisinin süresini sınırlar. Rokuronyumun etki

süresini karaciğer tarafından metabolize edilmesi de etkiler. Rokuronyum 0.9-1.2 mg/kg dozunda verildiğinde 60-90 sn içerisinde trakeal entübasyon için yeterli kas gevşemesi sağlar (19,20). Bu da hızlı seri indüksiyonda süksinilkolin yerine tercih edilmesinin sebebidir (21).

Rokuronyumun yapısı pankuronyum ve vekuronyum ile benzerdir. Rokuronyum vekuronyumun 3-hidroksi analogunun 2-morfolino-16-allil-pirolidino derivativesidir (Şekil 1). Vekuronyuma göre göreceli olarak daha lipofiliktir (4).

Nöromuskuler blokta düşük potensinin önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. Hangi kas gevşetici kullanılırsa kullanılsın moleküllerin hemen hepsi postsinaptik nikotinik reseptörüne bağlanır. Bu reseptörlerin çoğunun doldurulması ile nöromuskuler blok meydana gelir (22).

Rokuronyumun metabolitlerinin kas gevşetici etkileri yoktur. Rokuronyumun metabolitleri olan 17 desasetilrokuronyum ve 16 N-desalil rokuronyum plazmada saptanamaz. Bu yüzden rokuronyumun farmakokinetik etkileri üzerinde belirgin değişiklik yapmazlar (4).

Bazı çalışmalarda rokuronyumun hafif bir vagolitik etkisi gösterilmiştir. Bu etki pankuronyumdaki kadar olmasa da vagal uyarının sık olduğu cerrahi işlemlerde dikkate alınması gerekir (4).

3. SANTRAL SINIR SİSTEMİNDE NÖRONAL İLETİ

Sayınca fazla ve aralarında oldukça karmaşık ilişkiler olan hücrelerin oluşturduğu sinir sistemi anatomik olarak periferik ve SSS; işlevsel olarak da otonomik ve somatik sinir sistemi kısımlarına ayrılır. Her ne olursa olsun temel fonksiyonu, elektrik impulslarının iletilmesidir. Nöronlar bir hücre gövdesi (soma) ve dendrit ve akson denilen uzantılardan oluşur. Dendritleri aracılığı ile uyarıları alan nöron hücresinde akson boyunca aktarılan elektriksel ileti (aksiyon potansiyeli) diğer sinir hücresini uyarır (23).

a. Otonom Sinir Sistemi

Otonomik sinir sistemi vücudun kardiyovasküler, gastrointestinal ve termal homeostazını sağlamakta etkinlik gösterir. Sempatik sinir sisteminin aktive edilmesi kan akımının organlardan iskelet kaslarına redistribisyonu, artmış kardiyak fonksiyon, terleme, salivasyon ve pupiller dilatasyona neden olur. Parasempatik sistem daha çok vücudun fonksiyonlarının korunmasını sağlar (sindirim ve genitoüriner sistem).

Sinirler geleneksel olarak sahip olduğu kimyasal transmittere göre sınıflandırılır. ACh bulunan sinirler kolinerjik, norepinefrin veya epinefrin bulunan sinirler adrenerjik olarak adlandırılır. Kolinerjik reseptörler ACh ile reaksiyona giren hücre membran proteinleridir. Kolinerjik agonistler kolinerjik reseptörlerde ACh etkilerini gösteren ilaçlardır (24).

Mantardan izole edilen bir kimyasal madde olan muskarin parasempatik sinir sistemi aktivitesine benzer etkilere neden olur. Parasempatik olarak inerve edilen yapılarda muskarin etkisini taklit eden ilaçlara muskarinik ilaçlar adı verilir.

1900'lerin başında nikotin gangliyonik ve iskelet kası sinapslarında ve sinir membranları ve duyuşal sinir uçlarında etkili bulunmuştur. Kolinerjik sistemin bu bölümlerinde etkili olan ilaçlar nikotinik ilaçlar olarak adlandırılır. Nikotinik ilaçlar etki yerlerine göre de adlandırılırlar (gangliyonik veya nöromuskuler ilaçlar gibi).

Norepinefrin etkilerini taklit eden ilaçlar semptomimetikler olarak adlandırılır. Norepinefrin adrenerjik sinir sinirlerde etkili olmaktadır. Epinefrin ve norepinefrin adrenal medulladan salınırlar (23).

b. Asetilkolin Sentezi

ACh nöron içinde asetil koenzim A ve kolinden sinaptozomal mitokondride kolin asetil transferaz enzimiyle sentezlenir. Bu enzim varlığına rağmen beyinde kolin üretilmez ama transport edilir. Kolin kaynakları diet fosfolipidleri, fosfotidilkolinin hepatik sentezi ve ACh'n hidrolizinden üretilen kolindir. Kolinin çoğu hepatik kaynaklıdır. Kolin fosfolipid olarak transport edilir. Bu sistem ACh seviyesi ayarlanmasında temel teşkil eder. Prekürsör varlığı kolinerjik aktiviteyi sınırlar (23).

c. Kolinerjik Agonistlerin Etki Mekanizması

Kolinerjik ilaçlar ACh etkilerini taklit edebilir, güçlendirebilir veya inhibe edebilir. Kolinerjik ilaçlar tam olarak ACh gibi davranmazlar. İlaç etkileri daha spesifiktir ve her ACh reseptöründe etki göstermezler. Etki süreleri genellikle ACh etki sresinden uzundur.

Genellikle parasempatik sistem üzerine etkili ilaçlar 4 şekilde etki gösterir;

1. Agonist olarak, kolinerjik reseptörleri uyarır
2. Antagonist olarak, kolinerjik etkileri bloke eder
3. Otonomik gangliada reseptörleri bloke eder veya uyarır
4. Asetilkolin metabolizmasını inhibe eder ve etki süresini uzatır (14).

d. Sinaptik İleti

Tüm nöronlar elektriksel veya kimyasal olmak üzere 2 temel yolla sinaptik ileti yapar. Elektriksel iletinin gerçekleştiği sinapslarda yarısı presinaptik yarısı da postsinaptik nöronda olmak üzere bir çift yarım kanal yapısındaki *gap junction* kanalları vardır. İki hücrenin sitoplazması arasında ilişki devam eder ve iletim bunlarla sağlanır. Bu kanallarda hücreler arası aralık 25 nm'den ~2 nm'ye düşer ve bu yolla iyonlar, şekerler, aminoasitler ve molekül ağırlıkları 1000 kadar olan (ikincil haberciler; inositol trifosfat-IP₃, siklik adenosin monofosfat-cAMP, hatta küçük peptidler) diğer solütlerin geçişine izin verilir. *Gap junction* kanalları bu yolla elektriksel etkinliğin bir hücreden diğerine hızla yayılmasına ve çeşitli kimyasal habercilerin karşılıklı alışverişine de izin verir, bu iletimde enerji tüketimi azdır. Her kanalın çapı hücre içi kalsiyum (Ca⁺⁺) tarafından düzenlenir, Ca⁺⁺ konsantrasyonundaki artış *gap junction* kanallarındaki alt birimlerin birbirlerine yaklaşmasına ve böylece kanal çapının azalmasına neden olur. Kanal çapı voltaj ve pH tarafından da düzenlenebilir. Presinaptik nöronda oluşan akımın bir kısmı bu kanallardan postsinaptik nörona akar. Bu akım postsinaptik nöron membranında pozitif yük sağlar, eğer depolarizasyon eşik değeri geçerse voltaj-kapılı iyon kanalları açılır ve aksiyon potansiyeli oluşur.

Kimyasal iletinin gerçekleştiği sinapslarda ise presinaptik ve postsinaptik nöron arasında direk düşük resistanslı bir yol yoktur. Kimyasal sinapsta nöronlar sinaptik yarı denilen küçük bir aralıkla tamamen birbirlerinden ayrılmışlardır ve bir hücrenin diğerinin sitoplazması ile bir bağlantısı yoktur. İleti presinaptik nörondan nörotransmitter salınması ile başlatılır. Nörotransmitterler sinir hücreleri arasındaki kimyasal sinyal rolü oynayan moleküllerdir. Bunlar nöron boyunca ilerleyen ve aksiyon potansiyeli olarak bilinen elektriksel sinyalin kimyasal sinyale çevrilmiş halidir. Presinaptik membranda transmitterlerin salındığı aktif zon adı verilen özelleşmiş alanlar vardır. Aksiyon potansiyeli presinaptik akson terminaline ulaştığı zaman aktif zondaki voltaj-kapılı Ca⁺⁺ kanallarının açılmasına neden olur. Aktif zon yakınında artan Ca⁺⁺ konsantrasyonu ile nörotransmitter içeren veziküller presinaptik membran ile birleşerek içeriklerini sinaptik aralığa boşaltırlar ve ekzositoz gerçekleşmiş olur. Daha sonra nörotransmitterler sinir hücreleri arasındaki boşluğu geçerek postsinaptik membrandaki spesifik reseptörlere bağlanırlar ve bağlandıkları hücrelerde yeni bir aksiyon potansiyeli oluştururlar. Bu ileti elektriksel iletimdeki gibi hızlı değil, gecikmeli ilettir. Ancak kimyasal iletimde tek bir sinaptik vezikülün boşalması ile

binlerce nörotransmitter açığa çıkar ve tek sinaptik vezikülün hareketi ile binlerce postsinaptik iyon kanalı açılabilir (amplifikasyon özelliği).

Kimyasal iletide rol oynayan sinaptik reseptörlerin görevleri; spesifik nörotransmitterleri tanımak ve hücre membran potansiyelini ya da biyokimyasal durumunu değiştirmek için gerekli olan mekanizmaları aktif hale getirmektir. Bu reseptörler iyonotropik ve metabotropik olarak başlıca iki grupta incelenirler. Nörotransmitterler postsinaptik hücredeki iyon kanallarının açılmasını direkt veya indirekt etkilerler. İyon kanallarının direk olarak açılmasını kontrol edenler iyonotropik reseptörler olarak adlandırılırlar ve yapıları içinde ligand-kapılı iyon kanalları içerirler (hızlı nörotransmitter sistemi-saliseler içinde etkiler). Nörotransmitteri tanıma ve efektör mekanizmanın aktivasyonu aynı molekül tarafından gerçekleştirilir. İyon kanallarının açılmasını indirekt olarak kontrol eden metabotropik reseptörler ikincil mesajcı yola birleşmişlerdir ve iyonotropik reseptörlere göre daha yavaş (yavaş nörotransmitter sistem-saniye veya dakikalar içinde) etki ederler. Merkezi sinir sistemindeki bilinen tüm metabotropik reseptörler G-proteinlerine birleşmişlerdir ve 7 alt birimden oluşan transmembran bölgeleri vardır. G-proteinleri efektör enzim veya iyon kanallarının stimülasyonu ya da inhibisyonuna yol açan α , β ya da γ alt birimleri içerirler. Tipik olarak siklik adenosin monofosfat (cAMP), inositol trifosfat (IP₃) veya diaçil gliserol (DAG) ya da arasıdonik asit gibi ikinci mesajcı yola birleşirler (24).

e. Nörotransmitterler

Hızlı ya da direkt etkili nörotransmitter sistemi içinde glutamat, ACh, serotonin ve adenosin trifosfat (ATP), γ -Amino bütirik asit (GABA) ve glisin, yavaş yada indirekt etkili nörotransmitter sistemi içinde glutamat, GABA, ACh, norepinefrin, dopamin, serotonin, substans P, histamin, ATP, adenosin ve opioidler bilinmektedir. Görüldüğü gibi bir nörotransmitter hem yavaş hem de hızlı etkili olabilir.

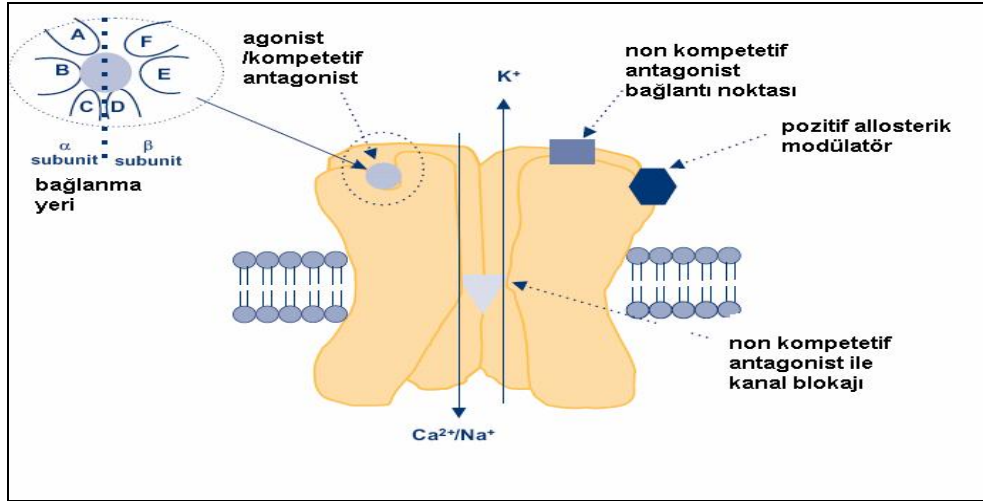
Glutamat, ACh, serotonin, ATP ve GABA hem hızlı hem de yavaş etkileri olan nörotransmitterlere örnektir. Örnek olarak ACh için; nAChR ile ilişkili olarak nöromüsküler kavşaktaki hızlı nörotransmisyon ve muskarinik ACh reseptörleri ile ilişkili yavaş etki olarak bronkokonstriksiyon, salivasyon ve gastrointestinal motilite verilebilir. Bu nörotransmitter sistemlerinin çoğu anestezi ilaçları ile etkilenir.

Bir sinaptik ileti eksitator veya inhibitör etkili olabilmektedir. Transmitter olarak pek çok kimyasal bileşik vardır ancak transmitterin etkisini belirleyen bileşiğin yapısı değil,

bağlandığı reseptörün özellikleridir. Ör; ACh bazı postsinaptik hücreleri uyarırken diğerlerini inhibe edebilir. Kolinerjik bir sinapsın eksitator mü inhibitör mü olduğunu belirleyen reseptördür (24).

Eksitator hızlı nörotransmitterler (glutamat, ACh, serotonin ve ATP) ligand-kapılı iyon kanallarını açarak öncelikle Na^+ ve Ca^{++} geçişine izin verirler ve hücre daha kolay uyarılabilir hale gelir. İnhibitör hızlı nörotransmitterler (GABA ve glisin) ise klor (Cl^-) geçişine izin vererek hücre içindeki negatif yükü artırır ve hücrenin daha az uyarılabilir olmasına yol açar.

Eksitator bir nörotransmitter olan ACh reseptörleri nikotinik ve muskarinik olarak ayrılırlar. Nikotinik ACh reseptörleri GABA_A , glisin ve bazı glutamat reseptörleri gibi bir kanal oluşturacak şekilde dizilmiş 5 alt birimden (γ , β , 2 α , δ) oluşan ligand kapılı iyon kanalları (iyonotropik) içerirler. ACh α alt birimlerine bağlanır. ACh veya nikotin bağlandığı zaman hem Na^+ hem de K^+ geçişine izin verir. Nikotinik ACh reseptörleri SSS'de (nöronal tip), otonomik gangliyonlarda postgangliyonik nöronlarda, adrenal medullada ve iskelet kasında (kas tipi) bulunurlar (Şekil 2).



Şekil 2. Nöronal nikotinik asetilkolin reseptörü (25)

Nöronal nAChR'nin çoğu SSS'de glutamin içeren aksonlarda presinaptik olarak bulunur ve glutamin salınımını artırır. Bu reseptörlerin en önemli özelliği Ca^{++} iyonuna olan yüksek geçirgenliğidir. Kas tipi nikotinik ACh reseptörleri nöromusküler iletide önemli rol oynarlar. Muskarinik reseptörler, fungal toksinlere ve muskarine cevap veren metabotropik reseptörlerdir. M_1 beyinde, M_2 kalpte, M_3 düz kas ve glandüler yapılarda, M_4 düz kasta ve henüz tam olarak tanımlanamayan M_5 muskarinik ACh reseptörleri vardır. Nikotinik reseptörlere göre beyinde daha yaygındırlar ve parasempatik sinirlerle innerve olan bezler ve

düz kaslarda bulunan majör reseptörlerdir. Adenil siklaz, K^+ kanalları veya fosfolipaz C'ye G proteini aracılığı ile bağlanan reseptörlerdir. Atropin özel olarak bu reseptörleri inhibe eder (24).

4. BEYİN NİKOTİNİK ASETİLKOLİN RESEPTÖRLERİ

Kolinerjik sistem sinir yollarının filogenetik olarak en eski ve en önemlilerinden biridir. ACh kolinerjik nöronlar tarafından sentezlenen, depolanan ve salınan bir nörotransmitterdir. ACh mesajını iletecek olan kilit moleküller, kolinerjik muskarinik ve nöronal nAchr'dir. Nöronal nAchr sinir sisteminde yaygın olarak bulunurlar. SSS'de nAchr aracılığıyla innervasyon transmitter salınması, hücre eksitabilitesi ve nöronal entegrasyon gibi fizyolojik fonksiyonların ve ağın çalışabilmesi için gerekli işlemler gerçekleşir (26).

Nöronal nAchr alttiplerden oluşan katyonik kanal ailesidir. Her birinin beyin ve gangliada spesifik farmakolojik, fizyolojik özellikleri ve dağılımı vardır. Ligand gated iyon kanalları süperailisine dahildirler (27).

İki nöronal nAchr sınıfı vardır; alfa bungaratoksin nAchr (homomerik alfa7-alfa9 altünite veya heteromerik alfa7, alfa8, alfa9, alfa10 altünite) ve nAchr (alfa2-alfa6 ve beta2-beta4 altüniteler) (26,27).

Homomerik ve heteromerik nAchr pentamerik yapıdadır. Altüniteler, merkezi kanalın etrafında organize olurlar. Homo-oligomerik reseptörler beş benzer ACh bağlanma bölgesinden oluşurken hetero-oligomerik reseptörler iki alfa altünite ve üç beta altüniteden oluşur ve bu nedenle iki bağlanma bölgesi mevcuttur. Heteromerik nAchr'de temel komponent alfa2-alfa4 ve alfa6 altüniteleri olurken, tamamlayıcı komponent beta2 veya beta4 olmaktadır. Homomerik reseptörlerde ise her bir altünite tamamlayıcı veya temel komponent olabilir.

Fonksiyonel olarak nöronal nAchr dört safhada olabilir: dinlenme, açık, iki farklı desensitize kapalı kanal durumu. Desensitize kapalı kanal durumu a) aktivasyona milisaniyeler süresince refrakter ve b) aktivasyona dakikalar süresince refrakter

Nöronlarda nikotinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonu Ca^{++} homeostazında etkilere neden olur. Sinyal iletiminde nöronal nAchr'e Ca^{++} girişi ve plazma membranının depolarizasyonu ile voltaj bağımlı Ca^{++} kanalları aktivasyonu ve intrasellüler Ca^{++} artışı olur. Bunlar da hücreiçi depolardan Ca^{++} salınmasını tetikler. Ca^{++} permeabilitesi reseptör alttiplerine göre değişkenlik gösterir. Ca^{++} tarafından aracılık edilen olaylardan (transmitter

salınımı, hücre eksitabilitesi, gen ekspresyonu, hücre diferensiasyonu ve hücrenin yaşaması) nAChR regülasyonu sorumludur (28,29).

Rodent beyinde nikotinik reseptör dağılımı iyi bilinmektedir. En yaygın reseptör alttipi alfa₄beta₂'dir (28).

Tablo 1. Ach reseptörleri (23)

Madde	Reseptörü	Tipi	Reseptör yeri	Agonisti/antagonisti
Asetilkolin	Nikotinik	İyon Kanalı (Na, K)	İskelet kası, otonom nöronlar, SSS	Nikotin-Agonist Kürar-Antagonist
	Muskarinik	G-protein kanal reseptörü	Düz kas, otonom nöronlar, SSS	Muskarin-Agonist Atropin-Antagonist

5. EPİLEPTİK NÖBET VE ASETİLKOLİN

Fizyolojik olarak epileptik nöbet, paroksizmal yüksek frekanslı veya senkronize düşük frekanslı, yüksek voltajlı elektriksel boşalmalar sonucu SSS'nin bir parçası ya da tümünün önüne geçilemeyen aşırı aktivitesidir (30). Farklı etyolojik nedenlerle SSS'deki değişik tipte nöron gruplarını içine alacak şekilde ortaya çıkar. Aynı anda ve pek çok nöron gruplarının hipersenkron olarak gerçekleşen boşalmaları, bu elektrokimyasal olaya katılan sinir sisteminin bölgesine göre klinik belirtiler verir. Normalden fazla elektrik aktiviteye sahip bu hücre grubuna "epileptojenik odak" denir. Normal sinir dokusunda deşarjın komşu hücre gruplarına yayılmasını engelleyen kimyasal ve nöral inhibitör yollar, anormal güçlü olan epileptik deşarj karşısında etkisiz kalır (31).

Epileptik deşarjlar hücrenin biyoelektrik deşarjlarının anomalisi olduğuna göre hücre membranındaki potansiyelin devamı ve potansiyelin sinaps yoluyla yayılmasında rol oynayan kimyasal, hormonal ileticilerin de epileptojenik aktivitede rol oynamaları olasıdır (30). Bugün birçok sinaptik taşıyıcı bilinmektedir. Eksitatör nörotransmitter olan ACh epileptik nöbetler sırasında bol miktarda salgılanır (32). ACh'nin ventriküle enjeksiyonu nöbetlere neden olmuştur. Endojen ACh serbestlemesinin NMDA reseptörleri ile modüle edilmektedir (33). Bu reseptörler kolinerjik dendritler üzerine direkt etki ile ACh serbestlemesini arttırmaktadır

(32). Öte yandan bilinen en önemli inhibitör nörotransmitter olan, ayrıca epileptik nöbetlerin patogenezinden önemle sorumlu tutulan GABA eksikliğidir.

Siklik nükleotidlerden cAMP artışının nöbetleri önlediği, cGMP artışının nöbetleri başlattığı, adenozin ve biyojenik aminlerin ise merkezi sinir sisteminde cAMP düzeyini yükselterek inhibitör etki gösterdikleri bilinmektedir. ACh ise guanil siklazı aktive ederek veya Na^+ - K^+ geçişini etkileyerek depolarizasyon oluşturmaktadır (32,34). Burada Na^+ - K^+ pompasının önemi de karşımıza çıkmaktadır. Bu pompanın hücre içi Na^+ ve Ca^{++} miktarını düzenlediği bilinmektedir. Hücre içi Ca^{++} miktarı artışı ise nörotransmitter salınımı ve sinaptik iletiyi bozmaktadır. Hücre içi Ca^{++} artışı hücre hasarının en önemli göstergesidir (30).

6.RATLARIN BOS DEĞERLERİ

Laboratuvar çalışmalarında kullanılan ratların beyin omurilik sıvısı değerleri tablo 4’de sunulmuştur (35).

Tablo 2. Ratların BOS değerleri

Osmolalite (mOsm/kg)	302±4
pH	7.35
Günlük üretim (mL)	10.0
BOS volümü (mL)*	0.25
BOS oluşum hızı (µL/dk)	2.83±0.18
Beyin hacmi (ml)	1.2/ 250 g
Beyin ağırlığı (g)	1.8/ 250 g

*30 günlük rat için belirtilen değer

GEREÇ ve YÖNTEM

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

Denekler

Dokuz Eylül Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarları'nda yetiştirilen, % 87 homojenitede, ağırlıkları 200-350 g arası değişen ve normal motor aktiviteye sahip 18-24 aylık 36 adet Wistar-Albino türü dişi rat çalışmaya alındı. Ratlar ortama alışmaları amacıyla çalışmaya başlamadan önce bir hafta süresince standart laboratuvar koşullarında (12 saat aydınlık-12 saat karanlık olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı) bulunduruldu. Yiyebilecekleri kadar su ve yiyecek (pellet yem) verildi. Tüm çalışma sessiz bir ortamda ve günün aynı saatlerinde gerçekleştirildi.

Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

Araştırma sürecinde aşağıda belirtilen sorunların gözlemlendiği ratlar çalışmadan çıkarıldı;

- İSV kanül yerleştirilmesi sonrası ve sonrasında ön ve/veya arka ayaklarında motor fonksiyon bozukluğu gelişen ratlar,
- İSV kanülü yerinden çıkan ratlar
- İzlem sırasında enfeksiyon gelişen ratlar
- Genel durum bozukluğu olan ratlar,
- Çalışmanın son aşamasında İSV verilen metilen mavisinin ventrikül içine dağılımının veya tüm ventriküle yayılmasının görülmediği ratlar

Hazırlık

Kanülün Hazırlanması

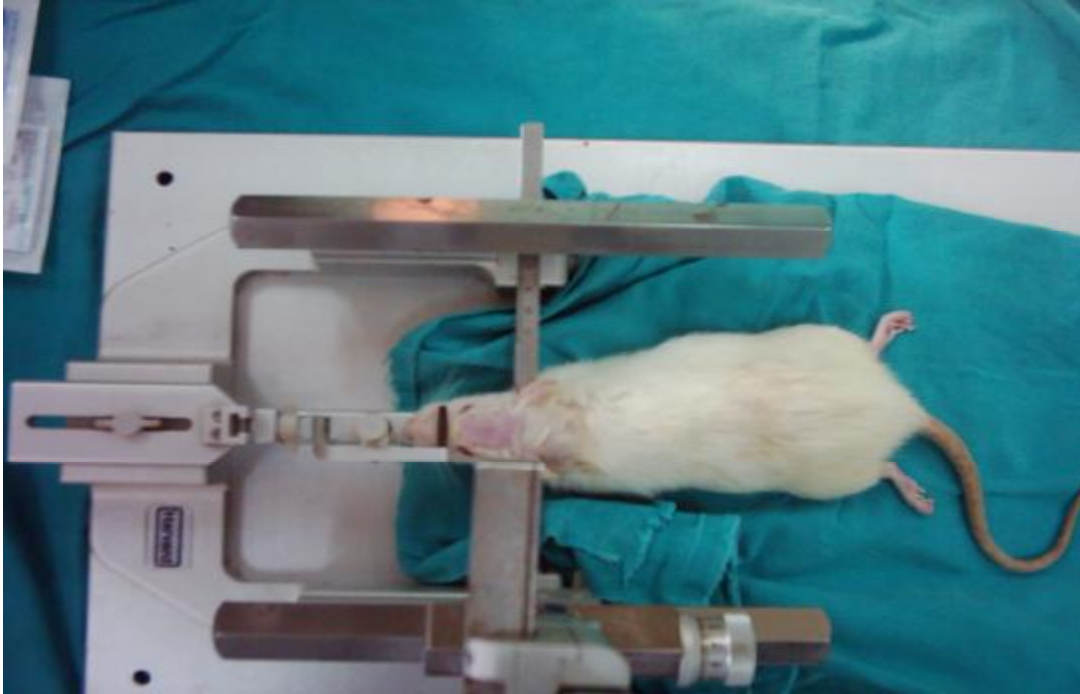
Intraserebroventriküler uygulamalar için kullanılan kanüller (C311/G, 20 G, Plastics One Inc., ABD) ve kanül içine doku ilerlemesini ve/veya herhangi bir yabancı maddenin girmesini engellemek amacıyla uygun birer stile (C311/DC, Plastics One Inc., ABD) yerleştirilerek kontrol edildi (Şekil 5). Kanüllerin açık ucunun 1 mm'lik bölümü, vertikal eksenindeki lateral ventrikül boşluğu ile her yükseklikte karşılaşması için eğik olarak kesikti. Tüm kanüllerin açık olup olmadığı stile ile kontrol edildi. Kalıcı kanül yerleştirilmesinin

amacı, ratların uyanık durumda ve serbest hareket halindeyken rahatlıkla İSV ilaç verilmesine olanak sağlamasıdır.

Ratların Hazırlanması ve Lateral Ventriküle Kanül Yerleştirilmesi

Ratlara spontan solunumları ve göz kırpma refleksi korunacak şekilde intraperitoneal olarak 50 mg/kg sodyum tiyopental (Pental® Sodyum İ.E. Ulugay İlaç San. TAŞ., İstanbul, Türkiye) ile anestezi uygulandı. Spontan hareketleri kaybolan rat yüz üstü pozisyonda masaya yatırıldı. İki kulak arasından nazale doğru doğru uzanan 4 x 2 cm'lik kafa derisi alanı tıraş edildi. Alan povidon iyot ile silindi ve % 1'lik 1 mL lidokain (Aritmal® % 2 amp, Biosel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş, İstanbul, Türkiye) cerrahi insizyon yapılacak bölgede cilt altına infiltre edildi.

Stereotaksi cihazının (Rodent Stereotaxic Instruments®, Harvard Apparatus, ABD) kulak çubuklarına lidokain pomad (Anestol® pomad %5 İlsan Hexal İlaç San., İstanbul, Türkiye) sürüldü ve ratların kafası stereotaksik bir çerçeve içerisinde, modifiye kulak çubukları ve infraorbital sabitleme için ilişirici kullanılarak stereotaksik cihaza sabitlendi (Şekil 3). Saçlı deri insizyonu ve künt diseksiyon ile kemik yapıya ulaşıldı. Kemik yüzeyi temizlendi ve bregmanın açık bir şekilde görülmesi sağlandı. Daha sonra stereotaksik koordinatlar bregmadan 1,6 mm lateral, 0,9 mm kaudal (sol) nokta lateral ventrikül giriş koordinatı olarak işaretlendi (36).



Şekil 3: Ratın stereotaksi cihazında hazırlanması



Şekil 4: Rata intraserebroventriküler kanül yerleştirilmesi

İşaretlenen noktaya 2 mm çaplı matkap ucu ile duraya zarar vermeden bir delik açıldı. Kalıcı kanül implantasyonunda kullanılan kanül stereotaksik cihazda tutacağa yerleştirildi ve ince uçlu cerrahi kesiciyle küçük bir delik açılan duradan aşağıya kemik yapıdan itibaren 3,5 mm indirilerek lateral ventriküle girildi. Kanülün lateral ventriküle girişi BOS'un kanül içinden çıkışı ile doğrulandı. İnsizyon kenarları yaklaştırılarak, 2/0 ipek ile dikildi ve insizyon alanı %10 povidon iyodin ile silindi. Tüm bu işlemler steril koşullarda yapıldı. Kanül içerisine doku ilerlemesini ve herhangi bir yabancı maddenin girmesini engellemek üzere kanüle uygun bir stile yerleştirildi. Bu işlem sonunda ratların olağan etkinliklerine dönmeleri için 48 saat beklendi (Şekil 4).

İlaçların Hazırlanması

Nöbet eşliğini saptamak için 10 mikrolitresinde 0,016 mikromol rokuronyum bromid (Esmeron®, Organon Corp, Oss, Hollanda) olacak şekilde stok solusyonu kullanıldı.

Nöbet oluşturan rokuronyum dozu bulunduktan sonra bu dozun 1/5, 1/10 ve 1/100 10 mikrolitrede olacak şekilde hesaplandı ve hazırlandı. Seyreltme işleminde Ringer laktat solusyonu (Ringer laktat , Biosel İlaç San.A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanıldı (10).

Hazırlanan rokuronyum bromid, Ringer laktat ve rokuronyum bromid-Ringer laktat solüsyonlarının pH'ları 23 °C'da pHmetre cihazına (InoLab® 720, WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Münih, Almanya) ile ölçüldü (Tablo 4).

Tablo 3. Çalışmamızda kullanılan solusyonların pH'ları

	<i>pH</i>
Nöbet eşiği saptanan Gruplar	
Grup Rokuronyum (n=6)	3.6
Grup Kontrol (n=6)	5.2
Çalışma Grupları	
Grup 1 (n=6)	3.6
Grup 2 (n=6)	3.9
Grup 3 (n=6)	4.1
Grup 4 (n=6)	4.8

Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

Nöbet Eşiğinin Saptanması (Birinci aşama):

Nöbet eşiğinin saptanması için toplam 12 rat randomize 2 gruba ayrıldı ve ağırlıkları tartıldı.

Grup Rokuronyum (n:6): Nöbet eşiğini belirlemek için İSV kanülü takılmış ratların kanüllerinin ucuna vinil kaplı polietilen malzemedan yapılmış ara bağlantı takıldı ve bu ara bağlantıya mikroenjektör olan Hamilton enjektörü (Hamilton® 710 series syringe, ABD) (Şekil 5) monte edildi. On mikrolitresi 0.016 mikromol olacak şekilde rokuronyum bromid 5 mikrolitrelik bölünmüş dozlarda Hamilton enjektörü ile uygulandı. Ardışık olarak her doz 60 saniyede enjekte edildi ve 60 saniye boyunca ratlarda etkisi gözlemlendi. Tonik klonik nöbet oluştuğunda verilmiş olan toplam doz kaydedildi. Tonik klonik nöbet geçiren ratlar 120 mg/kg intraperitoneal sodyum tiyopental verilerek sakrifiye edildi.



Şekil 5: Hamilton enjektörü ve intraserebroventriküler kanüller

Grup Kontrol (n=6): Her bir rata toplam 50 mikrolitre ringer laktat solusyonu 5 mikrolitrelik bölünmüş dozlarda İSV kanülden yukarıda açıklanan yöntem ile verildi. Nöbet geçirmeyen ratlar 6 saatlik gözlem sonrası 120 mg/kg intraperitoneal sodyum tiyopental verilerek sakrifiye edildi.

Çalışma Grupları (İkinci aşama)

Nöbet eşiği oluşturan rokuronyum bromid dozu belirlendikten sonra doz yanıt çalışması için ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

GRUP 1 (Grup pH Kontrol) (n=6): Nöbet oluşturan Rokuronyum solusyonu ile eşit pH (oluşturmak amacıyla aynı pH'ı elde edecek Ringer laktat solusyonu ile asetik asit karışımından, ratlara 60 saniyede Hamilton enjektörü ile 10 mikrolitre verildi.

GRUP 2 (Grup Rokuronyum 1/5) (n=6):Ratlara daha önce açıklanan yöntem ve sürede nöbet eşiği oluşturan dozun 1/5'i Ringer laktat solusyonu ile 10 mikrolitreye tamamlanarak verildi.

GRUP 3 (Grup Rokuronyum 1/10) (n=6):Ratlara daha önce açıklanan yöntem ve sürede nöbet eşiği oluşturan dozun 1/10'u Ringer laktat solusyonu ile 10 mikrolitreye tamamlanarak verildi.

GRUP 4 (Grup Rokuronyum 1/100) (n=6): Ratlara daha önce açıklanan yöntem ve sürede nöbet eşiği oluşturan dozun 1/100'ü Ringer laktat solusyonu ile 10 mikrolitreye tamamlanarak verildi.

İntraserebroventriküler verilen rokuronyum bromid etkilerinin değerlendirilmesi

İntraserebroventriküler verilen rokuronyum bromidin santral etkilerinin değerlendirilmesi 5 puanlı bir skala ile yapıldı (10);

0 = davranış değişikliği yok

1= azalmış lokomotor aktivite ve/veya piloereksiyon

2 = ajitasyon veya titreme

3 = ekstremitelerin postür alması veya dışa dönmesi, bütün gövdenin sallanması

4= tonik klonik konvulsiyon veya nöbet

Deneyin Sonlandırılması;

Nöbet geçiren ratlar 120 mg/kg intraperitoneal sodyum tiyopental verilerek hemen sakrifiye edildi. Nöbet geçirmeyenler 6 saat süre ile izlendi.

Tüm ratlar (nöbet geçiren veya geçirmeyen) çalışmanın sonunda 120 mg/kg intraperitoneal sodyum tiyopental verilerek sakrifiye edildi. Tüm ratlara çalışmanın sonunda, posmortem (İSV verilen rokuronyum bromidin verildiği yeri doğrulamak için) 50 µL miktarda metilen mavisi kalıcı kanül içinden İSV enjekte edildi ve boyanın ventriküler bölgeye düzenli bir şekilde yayılıp yayılmadığını kontrol etmek üzere beyin iki hemisferin ortasından kesilerek incelendi (Şekil 6).



Şekil 6. Metilen mavisi ile intraserebroventriküler kanül yerinin doğrulanması

İstatistiksel Deęerlendirme

İstatistik analiz SPSS for Windows istatistik programının 11.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma biçiminde verildi. Grup içi karşılaştırmalarda Friedman bunu izleyen Wilcoxon testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis, bunu izleyen Mann-Whitney U testi ve Fisher Exact testi kullanıldı. $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Vücut Ağırlıkları

Vücut ağırlıklarının ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo4).

Tablo 4. Ratların vücut ağırlıkları (Gram)

	Vücut ağırlıkları (gram)
Nöbet eşiği saptanan Gruplar	
Grup Rokuronyum (n=6)	199,83±9,43
Grup Kontrol (n=6)	227,83±18,59
Çalışma Grupları	
Grup 1 (Grup Kontrol) (n=6)	219,00±17,19
Grup 2 (Grup Rokuronyum 1/5) (n=6)	218,00±32,42
Grup 3 (Grup Rokuronyum 1/10) (n=6)	191,50±13,45
Grup 4 (Grup Rokuronyum 1/100) (n=6)	197,50±11,37

Nöbet Eşiği Saptanması (birinci aşama)

Grup Kontrol'de intraserebroventriküler toplam 50 mikrolitre ringer laktat solusyonu ($pH= 5.2$) verilen ratlarda herhangi bir davranış değişikliği gözlenmedi (Tablo 6).

Grup Rokuronyumda, İSV rokuronyum bromidin ($pH= 3.6$) nöbet eşik değeri 0.056 ± 0.009 mikromol olarak bulundu. Nöbet oluşturmak için verilen doz volüm 35.0 ± 5.48 mikrolitre olarak saptandı. Ratların epileptik nöbet eşiği değeri ağırlıklarına oranlanarak 0.286 mikromol/kg olarak hesaplandı (Tablo 5).

Tablo 5. Grup Rokuronyum'da kullanılan rokuronyum bromid doz ve volümleri

Ağırlık (g)	Doz (μmol)	Doz ($\mu\text{mol/kg}$)	Volüm (μl)
201	0.064	0.326	40
198	0.064	0.331	40
212	0.064	0.308	40
206	0.048	0.239	30
198	0.048	0.248	30
184	0.048	0.267	30

Tablo 6. Grup Kontrol’de kullanılan Ringer laktat volümleri ve santral etkileri

Ağırlık(g)	Hacim (µl)	Santral etkisi	Puan
220	50	Yok	0
260	50	Yok	0
221	50	Yok	0
239	50	Yok	0
216	50	Yok	0
211	50	Yok	0

Santral Sinir Sistemi Etkilerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda nöbet eşiği dozunun 1/5 ile daha çok ekstremite lerin postür alması, tüm vücutta kasılmalar görülürken; nöbet eşiği dozunun 1/10’u ile ajitasyon ve titremeler gözlemlendi. Nöbet eşiği dozunun 1/100’ü ile azalmış lökomotor aktivite gelişti (Tablo 8-11). Bu dozlarda görülen etkiler yaklaşık 1 saat içinde giderek azaldı ve lokomotor aktive azalması şeklinde devam etti. Toplam 6 saatlik izlem yapıldı ve bu süre zarfında beslenme ve motor davranışları kontrol grubuna benzer hale geldi.

Çalışmamızda grup rokuronyumun nöbet eşiği dozu pH’sı aynı pH’da olan grup 1’deki ratlarda herhangi bir davranış değişikliği gözlenmedi.

Tablo 7. Santral etkilerin değerlendirilmesi (ikinci aşamadaki tüm gruplar)

Çalışma Grupları (ikinci aşama)	Motor yanıt	<i>p</i>
Grup 1 (Grup Kontrol) (n=6)	0,00±0,00	
Grup 2 (Grup Rokuronyum 1/5) (n=6)	3,33±0,51	0,02
Grup 3 (Grup Rokuronyum 1/10) (n=6)	2,33±0,51	0,02
Grup 4 (Grup Rokuronyum 1/100) (n=6)	1,16±0,40	0,02

Tablo 8. Grup pH Kontrol santral etkileri

Ağırlık(g)	Santral etkisi	Puan
212	Yok	0
206	Yok	0
248	Yok	0
202	Yok	0
230	Yok	0
216	Yok	0

Tablo 9 . Grup Rokuronyum 1/5'in santral etkileri

Ağırlık (g)	Santral etkisi	Puan
189	Nöbet	4
266	Ekstremitelerin postür alması	3
232	Ekstremitelerin postür alması	3
238	Ekstremitelerin postür alması	3
199	Ekstremitelerin postür alması	3
184	Nöbet	4

Tablo 10. Grup Rokuronyum 1/10'un santral etkileri

Ağırlık (g)	Santral etkisi	Puan
194	Titreme	2
180	Ekstremitelerin postür alması	2
182	Ekstremitelerin postür alması	2
217	Ajitasyon	3
187	Ajitasyon	3
189	Titreme	2

Tablo 11. Grup Rokuronyum 1/100'ün santral etkileri

Ağırlık (g)	Santral etkisi	Puan
218	Lökomotor aktivite azalması	2
196	Lökomotor aktivite azalması	1
192	Lökomotor aktivite azalması	3
202	Lökomotor aktivite azalması	1
186	Titreme	2
191	Lökomotor aktivite azalması	1

TARTIŞMA

Çalışmamızda anestezi uygulanmayan ratlarda intraserebroventriküler kullanılan rokuronyumun epileptik nöbet oluşturduğunu ve rokuronyumun nöbet eşiği dozunun 0.279 mikromol/kg olduğunu saptadık. Ayrıca doz-cevap çalışmasında rokuronyumun epileptik nöbet oluşturan eşik değerinin 1/5 ve 1/10 dozunun eksitator, 1/100 dozunun inhibitör etki gösterdiğini bulduk.

İntraserebroventriküler alana ilaç verilmesi ile epileptik nöbet oluşturulması modellerinde sıklıkla denek olarak rat, tavşan ve gine domuzu kullanılmaktadır (10,39-42). Sınırlı bir kranium ve beyin volümüne sahip olan ratların birçok çalışmada ilaçların SSS etkilerinin gösterilmesinde uygun denek olduğu bildirilmiştir (10,38-41). Çalışmamızda anestezi uygulanmayan ratlarda İSV kullanılan rokuronyumun epileptik nöbet eşiğini bulmak ve SSS etkilerini değerlendirmek için, kolay elde edilmeleri ve özel donanımlı laboratuvar koşullarına gereksinimleri olmamaları nedeniyle Wistar türü ratları seçtik.

Cardone ve ark (5) 30 günlük ratlarda nöbet olduğu halde Ca^{++} artışı görmediklerini fakat erişkin ratlarda nöbet ve Ca^{++} artışı gördüklerini bildirmişlerdir. Bu farkın sebebi bilinmemektedir. Santral sinir sistemi ve reseptörlerin maturasyonu ile ilişkili olabileceğini ve sonuçlarımızı etkileyebileceğini düşünerek çalışmamızı 18-24 aylık ratlarda yapmayı uygun bulduk.

Çalışmamızda ratlara İSV kanülü takılması için Szenohradzky ve ark'nın (10) tanımladığı yöntem ve Paxinos ve ark. (36) tarafından hazırlanan rat stereotaksi atlası kullandık. Bu yöntem SSS'nde deneysel ilaç çalışmaları yapan araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (10, 38-41).

Ratlara İSV kanül yerleştirilerek SSS'e ilaç uygulanan çalışmalarda 48 saat sonra ratların normal beslenme ve hareketlerine dönmeleri ile çalışmaya başladığını bildiren yayınların (10) olmasının yanında kanül yerleştirildikten 7-10 gün sonra çalışmaya başlayan yayınlar da bulunmaktadır (39,40). Biz de Szenohradzky ve ark (10) benzer çalışmasını örnek olarak İSV kanül yerleştirildikten sonra deneklerin anestezi ve cerrahi işlem sonrası derlenmeleri için 48 saat beklemeyi uygun bulduk.

İlaçların SSS' deki epileptik nöbet etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda EEG izlemi veya gözlem yöntemleri tercih edilmektedir (39-42). Biz çalışmamızda rokuronyumun epileptik nöbet aktivitesi ve SSS etkilerini araştırmak için Szenohradzky ve ark'nın (10) gözlemsel yöntemde kullanmış olduğu beş puanlı skalayı tercih ettik.

Çalışmamızda İSV kanülden verdiğimiz dozların pH'larının epileptik nöbet oluşturulmasında etken olmadığını saptadık. Ayrıca rat BOS hacminin 0.50 mL (10) olması ve dozların yavaş uygulanması nedeniyle ilaç dozlarının seyrelerek etkisiz kalması sonucunda ratlarda pH'a bağlı herhangi bir etki gözlemedik.

Çalışma gruplarına İSV verdiğimiz volümlerin epileptik nöbet oluşumunda etkisi olmadığını saptadık. Ön çalışmamızda 100 mikrolitre Ringer laktat solüsyonunu 5 mikrolitre/dakika hızında verdiğimizde ratlarda herhangi bir davranış değişikliği gözlenmedi. Bu bulgumuz Szenohradszky ve ark (10) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda epileptik nöbet eşiği değeri belirlenirken en fazla 40 mikrolitre hacim verildi. Bu nedenle bizim kullandığımız ilaç volümlerinin ratlarda oluşan SSS değişikliklerine etkisinin olmadığını düşünüyoruz.

Çalışmamızda rokuryumun SSS'deki epileptik aktivite yapıcı etkilerini incelerken ilaç dozlarını İSV kanülden fraksiyone uyguladık. Nondepolarizan nöromuskuler bloke edici ilaçların otonomik etkileri doz ilişkilidir ve bölünmüş dozlar uygulansa da toplam dozun etkisi görülmektedir(4). Bu nedenle, İSV kanülden fraksiyone verilen doz uygulamaları 60 saniye aralıklarla yapıldığından, bunun sonuçlar üzerine etkili olduğunu düşünmüyoruz.

Rokuryumun epileptik nöbet oluşturma doz eşiğini 0.279 mikromol/kg bulduk. Szenohradszky ve ark (10) yaptığı benzer çalışmada rat santral sistemine atrakuryum, pankuryum ve vekuryum verilerek etkilerine bakılmış ve epileptik nöbet potansi açısından atrakuryum > pankuryum > vekuryum (0.12, 0.26, 0.46 mikromol/kg) olarak bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen dozlarla karşılaştırıldığında rokuryumun epileptik nöbet oluşturma potansi pankuryuma yakın olduğu saptanmıştır.

Rokuryumun sinir kas kavşağındaki etki potensi ile SSS'de epileptik nöbet oluşturma arasında bir ilişki yoktur. Rokuryumun sinir kas kavşağındaki etki potensi vekuryumdan 5-7 kat az olmasına rağmen epileptik nöbet aktivitesine neden olan dozu vekuryumun 1.5 katıdır (0.279 mikromol/kg ve 0.460 mikromol/kg) (10). Ratlarda rokuryumun epileptik nöbet oluşturma dozu pankuryuma yakındır fakat sinir kas kavşağındaki ED50 değeri pankuryumun 5 katıdır (46). Rokuryumun diğer kas gevşeticilere göre lipofilik olmasının etkisi olabilir mi? Pankuryumun 2-desmetil derivesi olan vekuryum 2-pozisyonunda kuvarterner metil grubu olmaması nedeniyle pankuryumdan daha fazla lipide erir (4). Rokuryum ise vekuryuma göre göreceli olarak daha lipofildir (rokuryum > vekuryum > pankuryum) (4). Dolayısıyla lipofilik

olma seviyeleri ile SSS etkileri arasında ilişki yoktur. Pankuronyum biskuarternin aminosteroid yapısı ile ACh'a en çok benzeyen kas gevşetici olmasına rağmen SSS'de nikotinik Ach reseptörü üzerine eksitatör etkisi atrakuryumdan azdır (14). Otonomik yan etkileri açısından karşılaştırıldığında atrakuryum otonomik gangliyonlara etkisizdir(4). Vekuronyum pankuronyumdan 20 kat daha az otonomik etki potensine sahipken, rokuronyumun otonomik etki potensisi vekuronyumdan 10 kat azdır (pankuronyum> vekuronyum> rokuronyum> atrakuryum) (4). Otonomik etki potensinin de SSS'de etki gösterme potensisi ile ilişkisi olmadığını düşünüyoruz. Büyük bir olasılıkla reseptörde etkili olan molekülün yapısından çok bağlandığı reseptörün özellikleri ile ilişkili olarak SSS etkilerinin ortaya çıktığını düşündük. Rokuronyumun bağlandığı reseptörün altgruplarının eksitatör veya inhibitör olması belirleyici olmaktadır.

Kas gevşetici ilaçlar kuvarternin amonyum bileşikleridir. Bu moleküllerin pozitif yükleri ACh'daki kuvarternin nitrojen atomunu taklit ederler. Bu da ilaçların nöronal nAChr'deki etkilerin temel nedeni olmaktadır (4). Ayrıca kas gevşeticilerin İSV verildikten sonra BOS' daki dağılım kinetiği hakkında halen yeterli bilgi yoktur (5,10). Bu nedenle gözlenen inhibitör ve eksitatör etkilerin beynin hangi bölümlerindeki ACh reseptörleri aracılığı ile gerçekleştiği bilinmemektedir.

Çalışmamızda rokuronyumun rat SSS'de doza bağımlı olarak SSS etkileri oluşturduğunu gösterdik. Rokuronyum düşük dozlarda SSS' de inhibisyon etkisi gösterirken yüksek dozlarda eksitatör etki ortaya çıkmaktadır (10). Rat beyni korteks dokularında Cardone ve ark. (5) yaptığı araştırmada kas gevşetici ajanların antagonist ve agonist etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Örneğin d-tubokurarin düşük dozlarda pankuronyum ve vekuronyumun beyin ACh reseptörlerindeki etkilerini antagonize ederken yüksek dozlarda sıçan inferior kollikulusunda epileptik nöbete neden olmaktadır. Büyük bir olasılıkla rokuronyumun düşük dozlarda SSS'de nikotinik Ach reseptöründe antagonist etki göstererek lökomotor aktivitede azalmaya neden olduğunu düşünüyoruz.

Bütün kas gevşeticilerde olduğu gibi rokuronyumun da etki yeri sinir kas kavşağındaki postsinaptik ACh reseptörüdür. Jonsson ve ark. (37) yapmış olduğu deneysel çalışmada rokuronyumun hem kas hem de nöronal nAChr'i inhibe ettiğini göstermiştir. Nöronal nAChr rokuronyum tarafından konsantrasyon bağımlı ve geri dönüşümsüz olarak mikromolar düzeyde inhibe edilmektedir. Bu çalışmada araştırmacılar aktivasyon gözlemlenemediklerini bildirmiştir. Rokuronyum sinir kas kavşağındaki ACh reseptöründe sadece inhibitör etki

gösterirken SSS nikotik Ach reseptöründe hem inhibitör hem de eksitator etkisi olduğunu düşünüyoruz.

Cardone ve ark (5) ve Szenohradzky ve ark'nın (10) ratların kortikal beyin materyalinde yapmış olduğu deneysel çalışmada non-depolarizan kas gevşeticilerin SSS'de bulunan nAChr'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Alfa₄-beta₂ altünitelerinden oluşan reseptörler Ca⁺⁺'a sinir kas kavşağındaki ACh reseptörüne göre 7 kat daha fazla geçirendir. Nöbet oluşumu patolojik örneklerde Ca⁺⁺ artışları ile korele bulunmuştur (5,10).

Ratların yaklaşık 1 saat sonra lokomotor aktivite azalması şeklinde gözlenen davranışları ve 6 saat içinde olağan hareket ve beslenme davranışları göstermesini hızlı BOS klirensine bağlıyoruz. Ratların BOS klirensi 2.83 µL/dk'dır (38). Rat BOS hacmi 500 µL olduğuna göre total BOS klirensi 176 dk sürer (6,10). Meulemans ve ark da (43) 290 g ağırlığındaki ratın BOS'unun % 45'nin 1 saatte yenilendiğini bildirmektedirler. Bu bilgi de görüşümüzü desteklemektedir.

Cesur ve ark (13) tarafından bildirilen kaudal enjeksiyon sırasında kaza ile SSS'e 100 mg rokuronyum verilmesi sonucunda hastada solunum sıkıntısı ve kas gevşemesi gelişmiştir ancak deneyimizin herhangi bir aşamasında biz böyle bir olay gözlemedik. Bunun nedeni rokuronyumun sinir kas kavşağına erişmesi ve kas gevşemesinin oluşabilmesi için yeterli konsantrasyona ulaşması için gerekenden daha az miktarda ilaç vermemiz olabilir. Fuchs-Buder ve ark (6) ve Tassonyi ve ark (44) kas gevşeticilerin solunum merkezinde santral etki ile apne oluşabileceğini bildirmiştir. Shao ve ark (45) kolinerjik sinir iletiminin solunum paterni üzerine etkili olduğunu ve nAChr inhibisyonu ile santral solunum depresyonu gelişebileceğini göstermişse de çalışmamızda inhibitör etkilerin gözlemediği nöbet eşliğinin 1/100 dozu da dahil olmak üzere herhangi bir rokuronyum dozunda ratlarda solunum paterni değişikliği görülmedi.

Yapmış oldukları yayınlarında hastalara kas gevşeticileri intravenöz uyguladıktan sonra aldıkları BOS örneklerinde Fuchs-Buder ve ark (6) rokuronyuma ve Tassonyi ve ark.(44) atrakuryum ve ladonozine,nanogram düzeyinde, rastladıkları halde epileptik nöbet veya otonomik SSS etkilerine rastlamadıklarını belirtmektedirler. Tassonyi ve ark.'nın (44) yayınladığı çalışmada Beemer ve ark.'nın peroperatif yüksek doz atrakuryum infüzyonu alan ve nöroşirürjik cerrahi geçiren hastalarda erken postoperatif dönemde nöbet aktivitesi görülme insidansının arttığını bildirdiği çalışmadan da bahsedilmektedir. Fuchs-buder ve ark (6) çalışmasında insan BOS'unda rokuronyum en çok 34.6 nanogram/mL konsantrasyonunda

saptanmıştır. Ratlarda bizim bulduğumuz nöbet eşiği dozu eğer rat BOS hacmini 0.5 mL kabul edersek 700 µgram/mL'dir (10). Bu da insanda ölçülen konsantrasyonun yaklaşık 20000 katıdır. Bu da insanda da rokuronyumun SSS etkilerinin görülebilmesi için çok yüksek dozlar gerekeceğini düşündürmektedir.

SONUC VE ÖNERİLER

Kas gevşetici ilaçların santral sinir sistemi üzerine olan etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışma sonucunda rokuronyumun SSS'de etkili olduğu gösterilmiştir. Hatta doz ilişkili olarak zararlı etkileri mevcuttur. Bu çalışmada çıkan sonuçlarla rokuronyumun insan ve rat beyinde oluşan etkileri arasında bir bağlantı kurmak mümkün değildir. Ayrıca uzun süre rokuronyum infüzyonu alan hastaların beyin omurilik sıvısında biriken miktarlar da bilinmemektedir.

Kan beyin bariyeri bozulmuş hastalarda uzun süre rokuronyum infüzyonu yapıldığında veya kazara rejyonel blok sırasında rokuronyum verildiğinde SSS etkilerinin oluşabileceği akılda tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Sparr H, Wierda J, Proost J, Keller C. Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Rocuronium in Intensive Care Patients. *BJA* 1997;78: 267-73
2. Tobias J. Continuous Infusion of Rocuronium in a Paediatric Intensive Care Unit. *Can J Anaesthesia* 1996;43:353-7
3. Peduto V, Gungui P, Di Martino M, Napoleone M. Accidental Subarachnoid Injection of Pancuronium. *Anesth Analg* 1989;69: 516
4. Savarese J.J.,Caldwell J.E.,Lien C.A., Miller R.D..Pharmacology of Muscle Relaxants and Their Antagonists: Miller RD (Ed.). *Anesthesia*. Philadelphia, 5.ed. Churchill Livingstone 2000: 412-490
5. Cardone C, Szenohradszky J, Yost S, Bickler P. Activation of Brain Acetylcholine Receptors by Neuromuscular Blocking Drugs: A Possible Mechanism of Neurotoxicity. *Anesthesiology* 1994: 80: 1155-9
6. Fuchs-Buder T, Strowitzki M, Rentsch J et al. Concentration of Rocuronium in Cerebrospinal Fluid of Patients Undergoing Cerebral Aneurysm Clipping. *BJA* 2004 :92 (3):419-21
7. Matteo RS, Pua EK, Khambatta HJ et al: Cerebrospinal Fluid Levels of d-Tubocurarine in Man. *Anesthesiology* 1977;46:396
8. Segredo V, Matthay M, Sharma M et al. Prolonged Neuromuscular Blockade After Long-Term Administration of Vecuronium in Two Critically Ill Patients. *Anesthesiology* 72:566-570,1990
9. Hennis P, Fahey M, Canfell C et al. Pharmacology of Laudanosine in Dogs. *Anesthesiology* 1986;65: 56-60
10. Szenohradszky J, Trevor A, Bickler P et al. Central Nervous System Effects of Intrathecal Muscle Relaxants in Awake Rats. *Anesth Analg* 1993: 76:1304-9
11. Vassilikos D, Tsakiliotis S, Veroniki F et al. Inadvertent Epidural Administration of Cisatracurium. *EJA* 2004;21: 663-72
12. Kostopanagitou G, Mylona M, Massoura L, Siafaka I. Accidental Epidural Injection of Vecuronium. *Anesth Analg* 2000: 91:1550-1
13. Cesur M, Alici H, Erdem A, Boğa İ. Accidental Caudal Injection of Rocuronium in an Awake Patient. *Anesthesiology* 2005: 103:444-5

14. Neuromuscular blocking drugs. Stoelting R, Miller RD. Basics of Anesthesia. 4. ed. Philadelphia, 2000 Churchill Livingstone p. 89-106
15. Bartkowski RR, Witlkowski TA, Azad S et al: Rocuronium Onset of Action: a Comparison with Atracurium and Vecuronium. *Anesth Analg* 1993;77:574
16. Khalil M, D'Honneur G, Duvaletin P et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Rocuronium in Patients with Cirrhosis. *Anesthesiology* 1994;6:241-5
17. Quill TJ, Begin M, Glass PS et al: Clinical Responses to ORG 9426 During Isoflurane Anesthesia. *Anesth Analg* 1991;72:203
18. Cooper RA, Mirakhur RK, Elliott P et al: Estimation of the Potency of ORG 9426 Using Two Different Modes of Nerve Stimulation. *Can J Anesth* 1992;39:139
19. Puhlinger FK, Khuenl-Brady KS, Koller J et al: Evaluation of the Endotracheal Intubating Conditions of Rocuronium (ORG 9426) and Succinylcholine in Outpatient Surgery. *Anesth Analg* 1992;75:37
20. Magorian T, Wood P: The Pharmacokinetics and Neuromuscular Effects of Rocuronium Bromide in Patients With Liver Disease. *Anesth Analg* 80:754, 1995.
21. Wright C, Peter M., Caldwell M, James E. Onset and Duration of Rocuronium and Succinylcholine at the Adductor Pollicis and Laryngeal Adductor Muscles in Anesthetized Humans. *Anesthesiology* 1994;81(5);1110-6
22. Bowman WC: Neuromuscular Block. *B J Pharm* 2006;147:277-286
23. Kayaalp O. Santral Sinir Sistemi Farmakolojisinin Temelleri. Kayaalp O(Ed.). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10.Baskı, İstanbul, Hacettepe Taş Kitapçılık, 731-769
24. Guyton, A .Membran Fizyolojisi, Sinir Ve Kas. Tıbbi Fizyoloji. Guyton, A. 3.Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1989 133-212
25. Sharples C , Wonnacott S. Neuronal Nicotinic Receptors, *Tocris Reviews* No.19, October 2001
26. Yamashita M, Mori T, Zhao X Et Al: General Anesthetic Modulation of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *International Congress Series* 1283 (2005) 243-246
27. Hogg Rc, Bertrand D: Neuronal Nicotinic Receptors, From Genes To Possible Therapeutic Compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2004;14:1859-61

28. Gotti C, Clementi F: Neuronal Nicotinic Receptors: From Structure To Pathology. *Progress In Neurobiology* 2004; 74 :363-396
29. Dani JA: Overview of Nicotinic Receptors and Their Roles in the Central Nervous System. *Biol Psychiatry* 2001; 49:166-74
30. Üzümlü, G: Epileptik Nöbet Oluşumunda Hücresel Mekanizmalar. *İstanbul Tıp Fak. Mecmuası* 1998:61:4
31. Adams RD, Victor M. *Principles of Neurology*. 4th Edition. Singapore, McGraw-Hill Book Co. 1989, p.258
32. Joosen MJ, Van Helden HP. Correlations Between Acetylcholinesterase Inhibition, Acetylcholine Levels and EEG Changes During Perfusion With Neostigmine And N6-Cyclopentyladenosine in Rat Brain. *Eur J Pharmacol*. 2007 Jan 26;555(2-3):122-8
33. Kemel ML, Pérez S, Godeheu G, Soubrié P. Facilitation by Endogenous Tachykinins of the NMDA-Evoked Release of Acetylcholine After Acute and Chronic Suppression of Dopaminergic Transmission in the Matrix of the Rat Striatum. *Journal of Neurosci*, 2002, 22(5):1929-1936
34. Bondarenko A, Sagach V. Na⁺-K⁺-ATPase is Involved in the Sustained Ach-induced Hyperpolarization of Endothelial Cells From Rat Aorta. *Br J Pharmacol*. 2006 Dec;149(7):958-65
35. Sharp P, Laregina M : *The Laboratory Rat*. CRC Press, Florida, 1998
36. Paxinos G, Watson C: *The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates*, New York: Academic Press, 1998
37. Jonsson M, Gurley D, Dabrowski M et al: Distinct Pharmacologic Properties of Neuromuscular Blocking Agents on Human Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Anesthesiology* 2006; 105:521-33
38. A Rahman, J Ago, N Matsumoto et al. Epileptogenic Activity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Antibiotics in Rats. *Biol. Pharm. Bull*. 2006; 29: 2035-40
39. Hossein Hosseinzadeh, Siavash Parvardeh, Marjan Nassiri, Mohammad-Taghi Mansouri. Intracerebroventricular Administration of Thymoquinone, the Major Constituent of *Nigella Sativa* Seeds, Suppresses Epileptic Seizures in Rats. *Med Sci Monit* 2005; 11: 106-110

40. Yildirim M, Marangoz C. Anticonvulsant Effects of Focal and Intracerebroventricular Adenosine on Penicillin-Induced Epileptiform Activity in Rats. *Brain Research* 1127 (2007)193–200
41. Yelmen N. Anestezi Verilmiş Tavşanlara İntraserebroventriküler GABA Verilmesinin Hipoksik Solunum Cevabına Etkisi. *Solunum* 2003 Vol: 5 Sayı: 2 Sayfa:73-80
42. Knigge KM, Wagner JE. Melanin-Concentrating Hormone (MCH) İnvolvement in Pentylentetrazole (PTZ)-Induced Seizure in Rat and Guinea Pig. *Peptides*. 1997;18(7):1095-7.(Abstract)
43. Meulemans A, Vıcart P, Mohler J, Vulpıllat M. Continuous Sampling for Determination of Pharmacokinetics in Rat Cerebrospinal Fluid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30, No. 6, Dec. 1986, p. 888-891
44. Tassonyi E, Fathi M, Hughes J et al. Cerebrospinal Fluid Concentrations of Atracurium, Laudanosine and Vecuronium Following Clinical Subarachnoid Hemorrhage. *ACTA Anaesthesiol Scand* 2002; 46:1236-1241
45. Shao XM, Feldman JL. Pharmacology of Nicotinic Receptors in the Prebotzinger Complex That Mediate Modulation of Respiratory Pattern. *J Neurophysiol* 2002; 88:1851-8
46. Gyermek L, Lee C, Cho Y, Nguyen N. Neuromuscular Pharmacology of TAAC3, a New Nondepolarizing Muscle Relaxant with Rapid Onset and Ultrashort Duration of Action. *Anesth Analg* 2002;94:879–85

ETİK KURUL İZİN BELGESİ