

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

**RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE
İNTRATEKAL UYGULANAN BUPİVAKAİNİN
ANALJEZİK ETKİSİNE İNTRAPERİTONEAL
UYGULANAN ONDANSETRONUN ETKİSİ**

DR. REMZİ ÖZGÜR ÖZAY

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2007

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

**RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE
İNTRATEKAL UYGULANAN BUPİVAKAİNİN
ANALJEZİK ETKİSİNE İNTRAPERİTONEAL
UYGULANAN ONDANSETRONUN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. REMZİ ÖZGÜR ÖZAY

Danışman Öğretim Üyesi: DOÇ. DR. SEMİH KÜÇÜKGÜÇLÜ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
TABLO DİZİNİ	ii
ŞEKİL DİZİNİ	ii
RESİM DİZİNİ	iii
GRAFİK DİZİNİ	iii
KISALTMALAR	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vi
GİRİŞ	1
AMAÇ	2
GENEL BİLGİLER	3
Serotonin	3
Serotonerjik Nöronlar ve Yolları.....	3
Reseptörler ve Fonksiyonları.....	4
5-HT 3 Reseptörleri.....	5
Ondansetron.....	6
Bupivakain.....	8
Ratlarda Ağrı Ölçüm Yöntemleri.....	9
<i>Tail-Flick</i> Testi	10
Ratlarda Vertebral Kolon, Spinal Kord ve BOS	12
GEREÇ VE YÖNTEM	15
Denekler	15
Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri	15
Hazırlık	15
Kateterin Hazırlanması	15
İlaçların Hazırlanması	16
Deneklerin Hazırlanması	16
Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları	18
<i>Tail-Flick</i> Testi	19
Motor Blok Değerlendirme.....	20
Hayvan Yaşamını Sonlandırma Yöntemi.....	20
İstatistiksel Değerlendirme	20

BULGULAR	21
Vücut Ağırlıkları	21
<i>Tail-Flick</i> Testi	21
TARTIŞMA	27
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR.....	32
Ek 1: ETİK KURUL İZİN BELGESİ.....	37

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 Doç.Dr Semih Küçükğüçlü'ye

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

Tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Necati Gökmen, Doç. Dr. Semih Küçükğüçlü, Prof. Dr. Osman Yılmaz, Dr.Ozan Özkaya, Dr.Sinem Kıstır'a

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

Asistanlık döneminin heyecanını, stresini ve güzelliklerini birlikte yaşadığımız başta, 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 Zeliha Özay ve küçük kızım Gözde Özay'a

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Dr.Remzi Özgür Özay

TABLO DİZİNİ

Tablo No	Başlık	Sayfa No
1	Ratta ve insanlarda BOS'un biyokimyasal özellikleri	14
2	Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları	21
3	Grupların tail-flick ortalama değerleri ve 0. dk.değerleri	24
4	Grupların tail-flick ortalama değerleri(sn)	25

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil No	Başlık	Sayfa No
1	Serotoninin kimyasal yapısı	3
2	Ondansetronun kimyasal formülü	7
3	R,S – (±) - Bupivakain	9
4	Ratın iskelet sistemi	12
5	Ratın spinal kordunun servikal ve lumbar genişlemeleri	13

GRAFİK DİZİNİ

Grafik No	Başlık	Sayfa No
1	Grupların zamana göre <i>Tail-Flick</i> sürelerinin dağılımı	26

RESİM DİZİNİ

Resim No	Başlık	Sayfa No
1	Ratlara kateter yerleştirilmesi	17
2	Ratın <i>Tail-Flick</i> cihazına yerleştirilmesi	19
3	<i>Tail-Flick</i> cihazında ölçüm	19

KISALTMALAR

5-HT:	5- hidroksitriptamin
SSS:	Santral Sinir Sistemi
BOS:	Beyin Omurilik Sıvısı
GIS:	Gastrointestinal Sistem
EKG:	Elektrokardiyografi
HCl:	Hidroklorik Asit
sn:	Saniye
g:	Gram
G :	Gauge
PE:	Polyetilen
µL:	Mikrolitre
SF:	Serum fizyolojik
Ltd:	Limited
µg:	Mikrogram
mg:.....	Miligram
kg:.....	Kilogram
mL:	Mililitre
cm:	Santimetre
İP:	İntraperitoneal
İT:	İntratekal
MOE:	Maksimum Olası Etki
Dk:	Dakika
mm:	Milimetre

ÖZET

RATLARDA TERMAL AĞRI MODELİNDE İNTRATEKAL UYGULANAN BUPİVAKAİNİN ANALJEZİK ETKİSİNE İNTRAPERİTONEAL UYGULANAN ONDANSETRONUN ETKİSİ

**Dr.Remzi Özgür Özay, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı, İzmir/Türkiye**

Amaç: Bu çalışmanın amacı ratlarda intratekal verilen bupivakainin analjezik etkisine sistemik(intraperitoneal) olarak uygulanan iki farklı doz ondansetronun etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmaya 24 adet rat alındı. Anestezi altında deneklere spinal kateter takıldı. Denekler randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

Grup Serum Fizyolojik (Grup SF) (n:6): 10µL intratekal (İT) SF + 0,5 mL intraperitoneal (İP) SF verildi.

Grup Bupivakain(Grup B) (n:6): 10µL İT bupivakain + 0,5 mL İP SF verildi.

Grup Bupivakain Ondansetron1(Grup BO1) (n: 6): 10µL İT bupivakain + 0,5 mL 1 mg/kg İP ondansetron verildi.

Grup Bupivakain Ondansetron4(Grup BO4) (n:6): 10µL İT bupivakain + 0,5 mL 4 mg/kg İP ondansetron verildi

Kateter, ilaç uygulamaların ardından 10 µL SF ile yıkandı

İntratekal ve intraperitoneal ilaç uygulamalarından önce(0.dk) ve uygulamalardan sonraki 5., 10., 20., 30., 45., 60., 90., 120.dk ratlara tail-flick testi uygulandı. Eş zamanlı motor blok varlığı **motor blok değerlendirme skalası** kullanılarak değerlendirildi. Ölçümlerin ortalaması kaydedildi. Veriler maksimum olası etki yüzdesi olarak gösterildi.(%MOE)

Bulgular: Tail-flick testi sonucunda;Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında; Grup B de tail-flick ortalama değerleri tüm zamanlarda anlamlı yüksek bulundu (p<0,05). Grup B ile Grup BO1 karşılaştırıldığında; Grup BO1 de tail-flick ortalama değerleri anlamlı düşük bulundu (p<0,05).Grup B ile Grup BO4 karşılaştırıldığında Grup BO4 de tail-flick ortalama değerleri anlamlı düşük bulundu (p<0,05). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında; Grup BO4 de tail-flick ortalama değerleri anlamlı düşük bulundu (p<0,05). Motor blok değerlendirmesinde ölçüm yapılan tüm dakikalarda motor blok saptanmadı.

Sonuç: Çalışmada 10 µg intratekal bupivakainin analjezik etkisinin 1 mg/kg intraperitoneal ondansetron ile azaldığı ve bu azalmanın 4 mg/kg intraperitoneal ondansetron ile daha da belirgin olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: İntratekal, bupivakain, intraperitoneal, ondansetron, analjezi

SUMMARY

The Effect of Intraperitoneal Ondansetron on Intrathecal Bupivacaine Analgesic Activity in The Thermal Pain Model of Rats

Dr. Remzi Özgür Özay, Dokuz Eylül Üniversitesi, Medical Faculty, Department of Anesthesiology and Reanimation

Objective: The aim of this study is to investigate the effect of systemic (intraperitoneally) two different doses ondansetron administration on analgesic activity of bupivacaine administered intrathecally in rats.

Material and Method: 24 rats were included in the study. Spinal catheters were placed to all subjects under anesthesia. Subjects were randomized to 4 groups:

Group Saline (Group SF) (n=6) 10 µL of saline was administered intrathecally (IT) and 0.5 mL of saline was administered intraperitoneally.

Group Bupivacaine (Group B) (n=6) 10 µL of bupivacaine was administered IT and 0.5 mL of saline was administered intraperitoneally.

Group Bupivacaine Ondansetron1 (Group BO1) (n=6) 10 µL of bupivacaine was administered IT and 0.5 mL 1 mg/kg ondansetron was administered intraperitoneally.

Group Bupivacaine Ondansetron4 (Group BO4) (n=6) 10 µL of bupivacaine was administered IT and 0.5 mL 4 mg/kg ondansetron was administered intraperitoneally.

Catheter was flushed with 10 µL of saline after drug administrations. Tail-flick test was applied to rats before and 5,10,20,30,45,60,90,120 minutes after intrathecal and intraperitoneal drug administrations. The presence of simultaneous motor block was evaluated with motor block evaluation scale. Mean values of the measurements were recorded. Data were showed as the percentage of maximum possible effect.(%MPE)

Results: As a result of tail-flick test, mean tail-flick values of Group B were significantly higher at each time compared to Group SF ($p<0.05$). Mean tail-flick values of Group BO1 were significantly lower compared to Group B ($p<0.05$). Mean tail-flick values of Group BO4 were also significantly lower than mean tail-flick values of Group B. When mean tail-flick values of Group BO4 are compared to mean values of Group BO1, mean values of Group BO4 were significantly lower ($p<0.05$). As a result of motor block evaluation, no motor block was determined in any measurement minutes.

Conclusion: This study showed that, the analgesic activity of 10 µL of intrathecal bupivacaine was reduced by 1 mg/kg intraperitoneal ondansetron and this reduction was much more evident with 4 mg/kg intraperitoneal ondansetron.

Keywords: Intrathecal bupivacaine, intraperitoneal, ondansetron, analgesia

GİRİŞ

Nosiseptif transmisyon ya da modülasyonda opioid, GABA, α -adrenerjik, muskarinik, serotonin ve adenozin reseptörlerinin rol aldığı gösterilmiştir (1)

Son yıllarda elde edilen kanıtlar serotonerjik spinal nöronların ağrıyı modüle ettiği fikrini desteklemektedir. Ancak spinal kord içerisinde serotoninin antinosiseptif yanıtlarını gösteren reseptör subtipleri tartışmaların ana konusunu oluşturmuştur. Bu serotoninin farklı reseptör tiplerinin zıt etkiler göstermesine bağlı olabilir (2).

Serotonerjik nöronların aktivasyonunun artması veya spinal korda topikal olarak uygulanan serotoninin ağrı iletimini inhibe etmesi, serotoninin spinal düzeyde antinosiseptif özellikleri olduğunu destekler. (3) Petersen-Feliks ve ark. (4) serotoninin spinal kord dorsal boynuzundaki primer afferent nosiseptif nöronlarda presinaptik 5-HT₃ reseptörleri ile antinosisepsiyon oluşturduğunu göstermişlerdir. Glaum ve ark. (5) ile Alhaider ve ark. (6) spinal nosiseptif yanıtta 5-HT₃ reseptörlerinin önemli bir rol oynadığını göstermişlerdir. Bunlara zıt bir görüş olarak Ali ve ark. (7) 5-HT₃ reseptör aktivasyonunun dorsal boynuz nöronlarında nosiseptif yanıtı kolaylaştırdığını göstermişlerdir.

Serotoninin ağrı mekanizmasındaki rolü 5-HT₃ reseptör antagonisti olan ondansetronun analjezik veya hiperaljezik etkileri olabileceğini gündeme getirmiş ve bununla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. (8, 9, 10, 11, 12).

Erhan ve ark. (8) farelerde tramadol'un farklı dozlarıyla oluşan analjezi ile ondansetronun farklı dozlarının eklenmesiyle ortaya çıkan analjezinin benzer özelliklerde olduğunu ve ondansetronun tramadole bağlı analjeziyi bloke etmediğini göstermişlerdir. Hunt ve ark. (9) yine ratlarda nifedipine bağlı analjezi süresini sistemik olarak verilen ondansetronun azalttığını göstermişlerdir. De Witte ve ark (10) ile Arcioni ve ark. (11) tramadol'un analjezik etkisinin ondansetron eklenmesiyle azaldığını göstermişlerdir. Fassoulaki ve ark. (12) intratekal verilen %5'lik hiperbarik lidokaine bağlı ortaya çıkan duysal bloğu sistemik olarak verilen ondansetronun antagonize ettiğini göstermişlerdir.

Pubmed'de (2007 Nisan tarihine kadar) yaptığımız literatür taramasında, deneysel ağrı modelinde ve klinik uygulamada intratekal yolla uygulanan bupivakain ile intraperitoneal ondansetron kombinasyonunun, analjezik etkisini araştıran çalışma bulunmadığını saptadık.

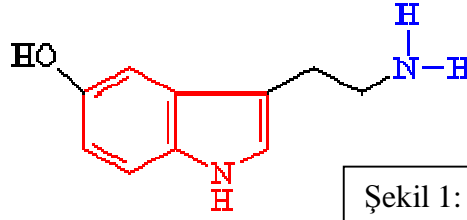
AMAC

Bu çalışmada amaç ratlarda intratekal verilen bupivakainin analjezik etkisine sistemik olarak uygulanan farklı iki ondansetron dozunun etkisini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

SEROTONİN

Serotonin (5- hidroksitriptamin, 5-HT), beyindeki nörotransmitter ve nöromodulator görevi geniş bir şekilde incelenmiş bir monoamindir (13,14). Kimyasal yapısı şekil 1’de gösterilmiştir (15).



Şekil 1: Serotoninin kimyasal yapısı

Sentez: Serotonin (5-Hidroksitriptamin, 5-HT) esansiyel bir amino asit olan L-triptofandan sentezlenen güçlü bir düz kas stimulanı ve vazokonstriktördür. Serotonin serotonerjik nöronların aksonal terminalinde sentezlenir ve veziküller içerisinde depolanır. Uyarın geldiğinde bu veziküller içerisinde sinaptik aralığa salınır (15).

SEROTONERJİK NÖRONLAR VE YOLLARI

Beyindeki serotonerjik nöronların büyük bir kısmı beyin sapında, bulbusun alt kısmındaki Raphe pallidus nukleusundan, mezensefalonun alt kısmındaki raphe dorsalis nukleusuna kadar olan alanda yerleşmiş 9 çekirdekten oluşan raphe sistemi içinde yerleşmiştir. Raphe sistemindeki nöronların aksonları yaygın dağılım gösteren bir çıkıcı yol oluştururlar, pontomezensefalik retiküler formasyondaki diğer hücreleri, n. genikulatis lateralis’i, hipotalamusu, amigdala ve hipokampus’ü ve beyin korteksini innerve ederler. Bu yolun uyku ve korteksteeki nöronların senkronizasyonu ile ilgili olduğu öne sürülmüştür. Raphe sisteminden kaynaklanan ikinci bir yol inisi tiptedir. İnisi yolun bir bölümü retiküler formasyona dahil yapılardan biri olan, yukarı bulbustaki nucleus raphe magnus’tan ve çevresinden (rostral ventral medulla’dan) başlar, omuriliğin arka boynuzuna gider; antinosiseptif nitelikte olan bu yolun uyarılması arka boynuzdaki spinotalamik nöronların inhibisyonuna neden olur ve analjezi yapar. Diğer bir inisi yol omiriliğin ön boynuzuna gider; bu yolun uyku esnasında kas tonusunun azalmasından sorumlu olabileceği ileri sürülmüş ise de bu konu tartışmalıdır (15).

RESEPTÖRLER VE FONKSİYONLARI

Serotonin etkilerini kendine özgü reseptörleri üzerinden gösterir. Presinaptik ve postsinaptik hücre membranlarında bulunan farklı tipteki bu reseptörlerin uyarılması ile efektör hücre nöronları üzerinde çeşitli etkiler ortaya çıkmaktadır.

Bulunan reseptör sayısı hızla artmaktadır. Son 10 yılda moleküler biyolojik tekniklerle 14'den fazla reseptör tipi belirlenmiştir. Bu çalışmalar, tedavide yeni hedefler sağlamış ve serotoninin beyindeki fonksiyonlarını anlamamızda yardımcı olmuştur. Sonuç olarak bugün için 7 ana grup kabul edilmektedir. Bunlardan yalnızca bir tanesi (5-HT₃) direkt iyon kanalına bağlı iken diğer altısı G proteinine bağlıdır. Bu reseptörler kendi içlerinde de alt tiplere ayrılırlar (15).

- § 5-HT_{1A}: En sık çalışılan reseptör subtipidir. Daha çok depresyon ile ilişkili bulunmuştur. Santral sinir sisteminde bulunur.
- § 5-HT_{1B}: Otoresseptör olarak görev yapar. (Nörotransmitter salınımını inhibe eder.) SSS'nde bulunur
- § 5-HT_{1C}: Bu reseptör choroid pleksusda yoğun olarak bulunur. BOS yapımını ve sirkülasyonunu regüle eder. Analjezi, uyku ve kardiyovasküler fonksiyonlarda rol oynadığı düşünülmektedir.
- § 5-HT_{1D}: Primer olarak SSS'nde bulunur. 5-HT_{1B} gibi otoresseptör olarak rol oynar. Agonistleri akut migren tedavisinde etkilidir.
- § 5-HT₂: Primer olarak vasküler düz kaslarda, trombositlerde, akciğerlerde, SSS'nde, gastrointestinal traktusta bulunur. GIS ve vasküler düz kasların kontraksiyonu, trombositlerin agregasyonu, migren ve hipertansiyon ile ilgili görünmektedir.
- § 5-HT₃: Primer olarak periferik ve santral sinir sisteminde lokalize olmuştur. Periferik sinirlerin depolarizasyonu, ağrı ve bulantı refleksi ile ilgilidir.
- § 5-HT₄: SSS, kalp, GIS'de bulunmaktadır. Nörotransmitter salınımını aktive eder.
- § 5-HT₅: Farelerde yapılan çalışmalarda frontal kortekste tespit edilmiştir. Otoresseptör olarak rol oynadığı düşünülmektedir.
- § 5-HT₆ ve 5-HT₇: SSS'nde bulunur ve dopaminerjik nöronların serotonin ile modülasyonuna kısmen aracılık ederler(15).

5-HT₃ Reseptörleri

5-HT₃ reseptörleri; membran depolarizasyonu ve nöronal eksitasyona aracılık eden katyon selektif iyon kanallarıdır. Granisetron ve ondansetron gibi yüksek selektif 5HT₃ reseptör antagonistleri ile birlikte farmakolojik çalışmalar ilerlemiştir (16).

Serotonin 5-HT₃ reseptörleri periferik olarak otonomik fibrillerin pre- gangliyon ve post-gangliyonlarında vagal afferentlerde dorsal kök gangliyonları içinde, C ve non-C fibrillerinin ve nosiseptif afferentlerin terminal bölgesinde lokalizedir. Santral olarak spinal dorsal boynuzun yüzeysel laminalarında, beyin sapının postrema bölgesinde, nükleus traktus solitarius, nükleus ambiguus, hipokampusta, enterik nöronlarda, nükleus kaudatus, amigdala da bulunurlar (16, 17, 18). 5 HT₃ reseptörlerinin iki subtipi tanımlanmıştır. 5 HT_{3A} santral ve periferik sinir sistemi nöronlarında bulunurken, 5 HT_{3B} periferik sinir sistemi nöronları ile sınırlıdır (13, 16).

5-HT özellikle inflamatuvar fazın başlangıcında majör bir mediyatördür. İnflamatuvar ağrının önlenmesi ve tedavisinde 5HT₃ antagonistlerinin kullanımı daha fazla klinik çalışma gerektirmektedir. Santral ağrı sürecindeki 5HT₃ reseptörlerinin rolü; 5HT₃ reseptörlerinin nöronal eksitasyona aracılık eden ligant-gated iyon kanalları olması ve primer afferent sinir liflerinin sonlandığı dorsal boynuzda yerleşmiş olmasından dolayıdır. 5HT₃ agonist ve antagonist etkileşmesini kullanan son çalışmalar, elektrofizyolojik ve hayvan verilerindeki gözlemlerinde 5HT₃ reseptörlerinin ağrı transmisyonunda rol aldığını göstermektedir (16, 19).

Mezensefalonda periakvaduktal gri maddenin veya medulla'da nucleus raphe magnus'un ya da diğer raphe çekirdeklerinin elektriksel stimülasyonu, inisi serotonerjik bulbo spinal yol ve kısmen de noradrenerjik bir yol aracılığı ile omurilik arka boynuzu düzeyinde sinaptik inhibisyon yaparak nosiseptif refleksi inibe eder ve analjezik etki oluşturur. Bu yerlere morfin injeksiyonu da aynı yollar üzerinden analjezik (antinosiseptif) etki yapar. Omurilik düzeyinde salıverilen serotoninin analjezik etkisine 5-HT_{1B} ve 5-HT₃ reseptörleri aracılık eder (15).

Serotonin 5 HT₃ reseptör antagonistleri kan- beyin bariyerinden geçer ve santral 5 HT₃ reseptörlerini bloke ederler. Postrema alanında, radyoterapi ve kemoterapinin emetik yan etkilerini azaltırlar. Hipokampus ve limbik bölgede ise 5 HT₃ reseptör antagonistlerinin anksiyeteyi azaltığı ve öğrenme, hafıza ve sinaptik plastisitede GABAerjik fonksiyonları etkileyebileceği gösterilmiştir. Dorsal kök gangliyonlarında ve periferikte, 5 HT₃ reseptör

antagonistleri, C ve non-C fibrilleriyle ilgili inflamasyonda 5 HT₃ alanları üzerine etki ederek nosiseptif etkiler oluşturur(13).

Periferik 5 HT₃ reseptörlerinin nosisepsiyon mekanizmasına katkıda bulunabileceği ve inflamasyonda da sekonder etkisi olabileceği belirtilmiştir. Santral 5 HT₃ reseptörleri ise daha farklı bir rol oynar. Santral 5 HT analjezide kritik bir substrattır. Dorsolateral funikulusun rostroventral medullasındaki raphe çekirdeğinden çıkan serotonerjik fibriller spinal kordun superfisyal dorsal boynuzuna doğru uzanır. Orta beynin periakuaduktal gri hücrelerinden inen 5 HT yollarının aktive olması, spinal kordaki lokal ve segmental internöron havuzunda ve nosiseptif afferentlerin sinaptik bağlantılarında 5 HT salınımına neden olur ve bu analjezi oluşturur. Serotonin 5 HT₃ reseptörleri spinal dorsal boynuzda superfisyal laminalarda tanımlanmıştır. İntratekal verilen 5 HT₃ reseptör antagonistleri, 5 HT'nin yaptığı analjeziyi bloke eder ve orta derecede hiperaljezik cevaplar oluşturur. İntraspinal verilen 5 HT₃ agonisti, 2-metilserotonin kimyasal/inflamatuar ve termal ağrıya karşı doz bağımlı bir analjezi oluşturur. Bu etki, GABA reseptör antagonisti bicuculline ve opioid antagonisti naloksan uygulamasıyla azalır. Bu 5HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu ile oluşan analjezik etkinin spinal GABAerjik ve opioid mekanizmasına bağlı olduğunu destekler(13).

Dorsal boynuzun farmakolojisi ve anatomisine göre, inen raphe-spinal 5 HT yolları, süperfisyal laminadaki internöronlarda bulunan 5 HT₃ reseptörleri ile bağlanır ve 5 HT serbestleşir. 5 HT₃ reseptörlerinin aktivasyonu primer ve/veya sekonder nosiseptif nöronları inhibe eden, GABA ve opioidlerin (enkefalin, dinorfin gibi) salınımına yol açan nöronları depolarize eder (13).

ONDANSETRON

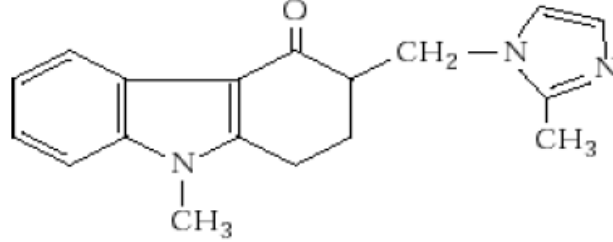
Son yıllarda özellikle serotonin olmak üzere biyolojik aminler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Serotonin (5-hidroksitriptamin= 5HT) nörotransmisyonunda rol alan beyin ve spinal korda bulunan biyolojik bir amindir (16).

Ondansetron hidroklorür klinik kullanıma 1990 yılında giren ilk 5 HT₃ reseptör antagonisti antiemetik ilaçtır (20).

Ondansetron ve granisetron gibi 5 HT₃ reseptör antagonistlerinin keşfi ve kullanımı ile 5-HT'nin emezis ve emetik refleksi içeren nöronal yoldaki rolüne dikkat çekilmiştir. Hayvan çalışmaları 5-HT'nin hem area postremadaki santral yerleşimli hem de ince bağırsak

duvarındaki vagal splanknik sinir pleksuslarında periferik yerleşimli 5HT₃ reseptörleri aracılığı ile emetik etkiye yol açtığı gösterilmiştir (16).

Ondansetronun fiziksel ve kimyasal özellikleri



Şekil 2: Ondansetronun kimyasal formülü

Ondansetron 5 HT₃ reseptörlerini selektif olarak inhibe etmekte ve bulantı, kusma tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (20).

Ondansetronun farmakokinetik özellikleri

Ondansetron, 5HT_{1B}, 5HT_{1C}, α_1 –adrenerjik ve opioid reseptörlerinde zayıf aktivite gösterir (14).

Mide bağırsak kanalından çabuk absorbe edilir, oral biyoyararlanımı yaklaşık %60 kadardır (20).

5 HT₃ reseptör antagonistleri oral alımdan sonra hemen absorbe olur, kan beyin bariyerini kolayca geçer ve santral sinir sisteminde maksimum konsantrasyona intravenöz enjeksiyondan 5 dk sonra ulaşır (18).

Ondansetronun sistemler üzerine etkisi

Antiemetik etkisine ek olarak midenin boşalma hızını artırır. Bağırsak transit süresini uzatır (16).

5 HT₃ reseptör antagonistleri genel olarak iyi tolere edilir. En sık görülen yan etkiler baş ağrısı, konstipasyon, baş dönmesi, yorgunluk, abdominal ağrı ve diyare gibi gastrointestinal bozukluklardır (14).

5 HT₃ reseptör antagonistleri EKG parametrelerinde (PR, QRS, QT aralıkları) küçük reversibl değişikliklere neden olur ve klinik olarak önemsizdir. Bu değişiklikler sırasında

hastalarda semptom görülmez. EKG değişiklikleri, 5 HT₃ reseptör antagonistlerinin intravenöz enjeksiyonundan 1-2 saat sonra ortaya çıkar ve 24 saat içinde normale döner (14)

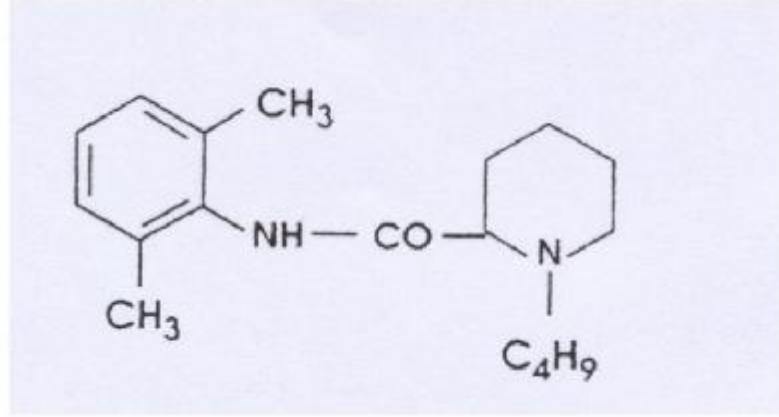
Metabolizması

Ondansetron karaciğerde metabolize olur, eliminasyon yarı ömrü ortalama 3.3 saat kadardır. Yaklaşık %10 oranında böbreklerden değişmeden atılırken büyük kısmı metabolit konjugatı şeklinde atılır (20).

5 HT₃ reseptör antagonist ilaçları sitokrom P450 enzim sisteminin farklı subtipleri tarafından metabolize olurlar. Ondansetron ve granisetron, sitokrom P450-3A suptipi, tropisetron ve dolasetron 2D6 suptipi tarafından metabolize olur. Bu yüzden ondansetron ve granisetron ile tropisetron ve dolasetronun yarı ömürleri farklıdır. Ondansetron ve granisetronun yarı ömrü tropisetron ve dolasetronun yarı ömürlerinden daha kısadır (18).

BUPIVAKAİN

Amid yapıda uzun etkili bir lokal anestezi ajanıdır. İlk kez 1963 yılında kullanılmıştır. Bugün için epidural anestezide en sık kullanılan lokal anestezi ilaç bupivakaindir (21, 22). Piperidin halkası üzerine butil grubu eklenmiştir. Etki süresi lidokaine oranla 2–3 kat daha uzundur. Kısa etki süreli lokal anestezi ajanlara oranla daha lipofiliktir (23). Plazma klirensi 0.58lt/dk, eliminasyon yarılanma süresi 2.7 saat ve hepatic ekskresyon oranı 0.40'tır. Başta α 1 – asit glikoprotein olmak üzere plazma proteinlerine %96 oranında bağlanır. Plasentayı kolaylıkla geçer. Plazma proteinlerine bağlanma oranı anneye göre fetüste daha düşüktür. Piyasada HCl tuzu olarak bulunur. İnfiltrasyon ve sinir blokajı için % 0.25; spinal, epidural ve kaudal blok için % 0.5 konsantrasyondaki solüsyonları kullanılır. Solüsyon pH'ı 4.5–6.5 olup, pKa'sı 7.7'dir. fizyolojik pH'da % 33 oranında iyonize olmayan baz şeklindedir. Karaciğerde glukuronid konjugasyonu ile metabolize olur. Yarı ömrü erişkinde 9 saat, fetüste ise 8 saattir.



Şekil 3: R,S – (±) - Bupivakain

Bupivakain toksisitesinin tedavisi oldukça zordur, toksisite özellikle asidoz ve hipoksi ile agra ve olur. Toksikite nedeniyle meydana gelen kardiyovasküler arrest resüsitasyona çok dirençlidir. Resüsitasyondaki bu zorluk ve mortalitenin yüksek olması bupivakainin proteinlere yüksek oranda bağlanmasına ve yüksek lipid çözünürlüğü nedeni ile ajanın kalpteki iletim sisteminde birikerek refrakter re-entry aritmilere neden olmasına bağlanmıştır.

Bupivakainin R ve S olmak üzere iki izomeri bulunur. R izomeri, S izomerine oranla A –V iletim zamanını belirgin şekilde uzatır. Bupivakainin kardiyak etkilerinin, kalsiyum kanalları ve intrasellüler kalsiyum akımı ile negatif etkileşmesine ve mitokondrilerde ATP sentezi üzerine olan olumsuz etkilerine bağlı olduğu bulunmuştur. Ayrıca bupivakainin miyokard kontraksiyon gücünü azaltması, depolarizasyon hızını ve aksiyon potansiyel amplitüdünü düşürmesi de kardiyak depresan etkiye katkıda bulunur. Bir seferde uygulanabilecek maksimum doz 200 mg olup, 1/ 200.000 konsantrasyonda adrenalin eklendiğinde bu miktar 250 mg'a çıkarılabilir. Doz tekrarı 3 saatten önce yapılmamalıdır. Günlük maksimum doz ise 600 – 800 mg'ı geçmemelidir (9 mg/kg/gün) (24, 25).

Ratlarda Ağrı Ölçüm Yöntemleri

Ratlarda akut ağrı çalışmalarında çeşitli uyarılar kullanılmaktadır. Yeterli uyarı oluşturmak için, şiddeti belirlenebilen, tekrar üretilebilen ve non-invaziv olma özelliklere sahip bir uyarı uygulanmalıdır (26).

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 veriliş süresine bağlıdır.

Ratlarda kullanılan akut ağrı ölçüm yöntemleri (26);

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 (26);

A. İntradermal enjeksiyonlar; Formalin testi

B. İrritan ajanların intraperitoneal enjeksiyonu; *Writhing* test

C. İçi boş organların uyarılması

TAIL-FLICK TESTİ

Tail-Flick testi; 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. Radyan ısı uygulamasında, deri ısısı uygulama süresinin kare köküyle değişkenlik göstermektedir (26).

A) Radyan ısı kullanılan *Tail-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 (26).

B) Kuyruğun suya batırılmasıyla uygulanan *Tail-Flick* testi: Diğer testin bir varyantıdır. En büyük farkı uyarılan alanın büyüklüğüdür. Bu testte kuyruğun ısısı daha hızlı yükselir ve süreyi ölçmek daha zordur (26).

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 (27).

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 (27).

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 (27).

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 monoaminergik sistemler gibi otonomik aktivite ve termo ya da kardiyovasküler regülasyonu etkileyen ilaç ya da faktörlerin araştırmasında, deri ısılarının

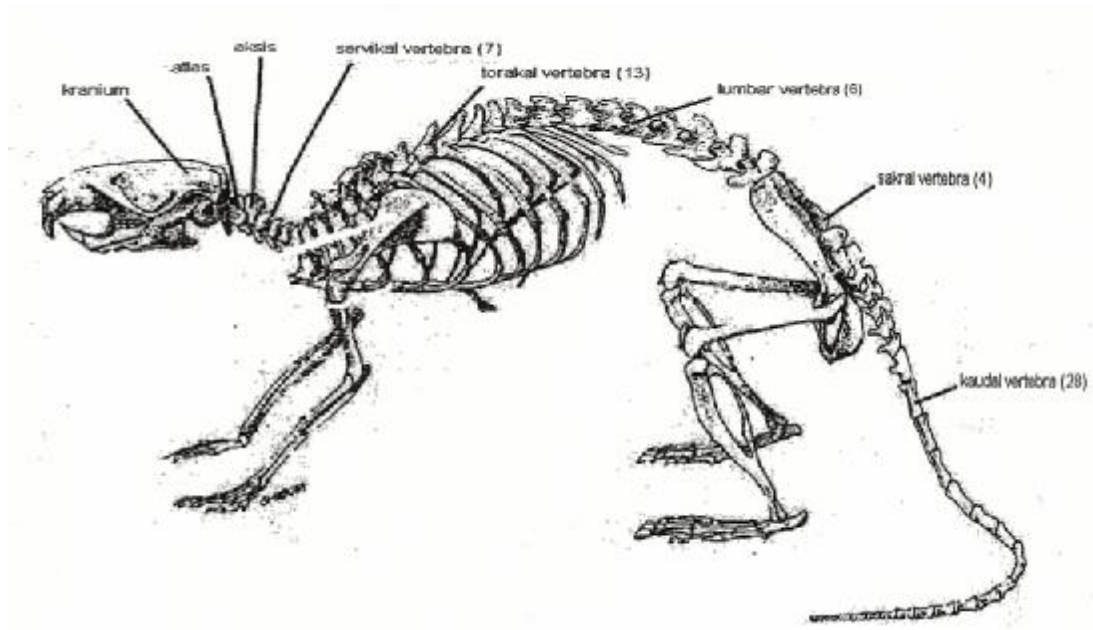
etkilerinin hesaba katılması zorunludur. Kuyruk deri ısı ölçümlerinin kaydedilmesi ve ısı değişimlerinde buna göre, tail-flick latensinin düzeltilmesiyle, bu sorun azaltılabilir (27).

Başka denenen bir alternatif, tail-flick latens ölçümünden önce, kuyruğa, belli bir ısıya kadar lokal ön ısıtma uygulanmasıdır. Eğer, stimülasyonun başlamasından önce deri ve subkutan dokunun ısı sabitlenirse, bu, doku ısılarını değiştiren karmaşıklaştırıcı etkiyi engeller (27).

RATLARDA VERTEBRAL KOLON, SPİNAL KORD ve BOS

Vertebral Kolon

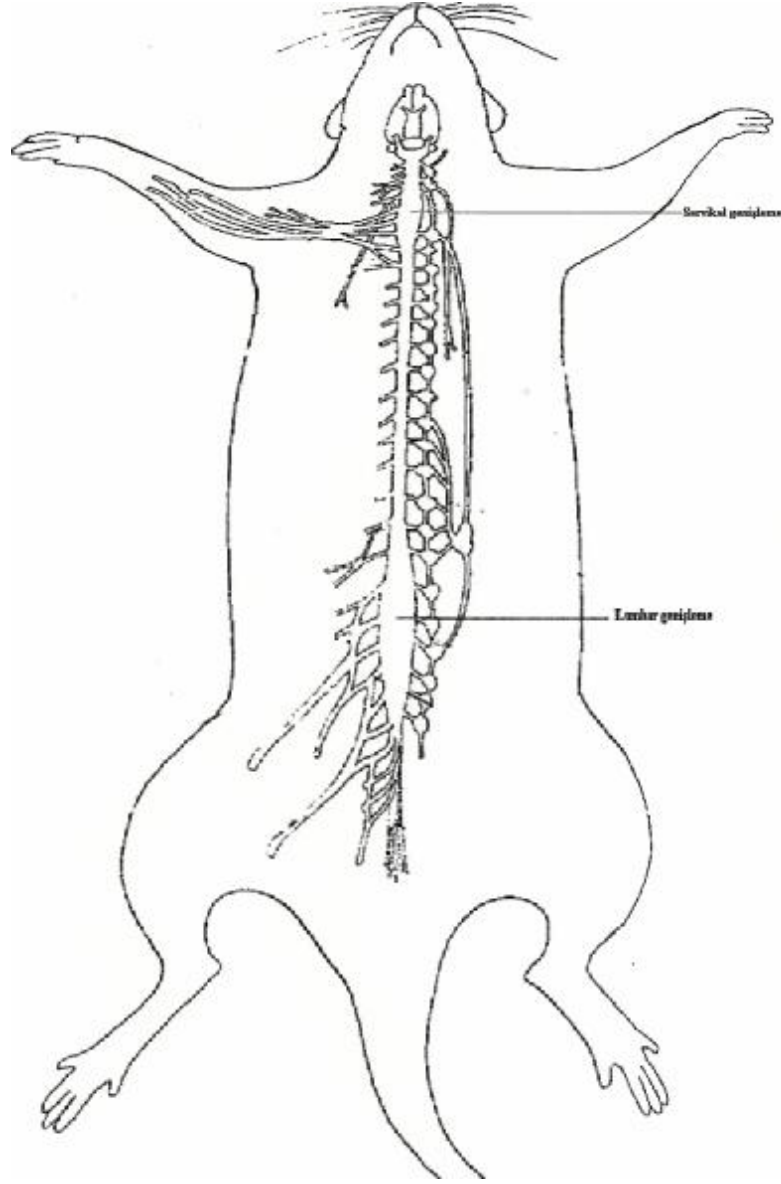
Kraniyalden kaudale doğru 7 adet servikal, 13 adet torakal, 6 adet lumbar, 4 adet sakral, 28 adet kaudal olmak üzere 58 adet vertebradan oluşmaktadır.



Şekil 4. Ratın iskelet sistemi (28)

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 5. Ratın spinal kordunun servikal ve lumbar genişlemeleri (28)

BOS'un Biyokimyasal Özellikleri (29)

Tablo 1. 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 ⁺ (meq/L)	156	138
K ⁺ (meq/L)	2.8	2.8
Cl ⁻ (meq/L)	126	119
Glikoz (mg/dL)	65	60
BOS volümü (mL)*	0.25	120-150

* 30 günlük ratın BOS volümü

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, ağırlıkları 260-300 gram (g) arası değişen ve normal motor aktiviteye sahip 24 adet Wistar Albino türü erkek rat araştırmaya alındı. Ratlar bir odada her biri ayrı kafeste olmak üzere kafeslere yerleştirilip, yiyebilecekleri kadar yiyecek ve su verildi. Hayvanlara 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ışık düzenlemesi yapıldı.

Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

- Kateter yerleştirilmesi sonrası ve sonrasında beş gün içerisinde ön ve arka ayaklarında motor fonksiyon bozukluğu gelişmesi,
- İzlem sırasında enfeksiyon oluşması,
- İntratekal kateterden uygulanan lokal anestetik sonrasında, 30 sn içinde arka bacaklarında paralizisi ve sürüklenme davranışı gözlenmesi

Bu bulgular oluşmadığı için hiçbir rat çalışma dışı bırakılmadı.

Hazırlık

Kateterin Hazırlanması

İntratekal uygulamalar için, 20 G (Gauge) polyetilen (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 (µL) serum fizyolojik (SF) ile dolduruldu ve cerrahi işlem süresince steril ambalajında saklandı.

İlaçların Hazırlanması

Bupivakain (Marcain % 0.5 Astra Zeneca İlaç Sanayii ve Ticaret Limited (Ltd.), İstanbul, Türkiye), 10 µg/10 µL ve ondansetron (Zofer, Adeka İlaç Sanayi, Samsun, Türkiye), 1 mg/kg ve 4 mg/kg olacak şekilde verildi. 1 mL'de 1 mg (1000 µL'de 1000 µg) olacak şekilde bupivakain serum fizyolojik ile sulandırıldı.

İntratekal kateterden enjeksiyonlar 10 µL'lik Hamilton enjektörü (Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, İsviçre) ve intraperitoneal serum fizyolojik ve ilaç uygulamaları 1 mL'lik insülin enjektörü ile yapıldı. Önce intraperitoneal ondansetron daha sonra intratekal bupivakain uygulandı.

Deneklerin Hazırlanması

Deneklere spontan solunumları ve göz kırpma refleksleri korunacak şekilde intraperitoneal olarak 30 mg/kg tiyopental (Pental® Sodyum İ.E. Ulugay İlaç Sanayi Türkiye Anonim Şirketi, İstanbul, Türkiye) ile anestezi uygulandı. Spontan hareketleri kaybolan denek yüz üstü pozisyonda masaya yatırıldı. İki kulak arasından kaudale doğru uzanan 4x2 cm'lik alan tıraş edildi. Alan povidon iyot ile silindi ve % 1'lik 1 mL lidokain cerrahi insizyon yapılacak bölgede cilt altına infiltre edildi.

İntratekal kateterizasyonlar, Yaksh ve Rudy'nin (30) 1976'da tanımladığı ve daha sonra 2004 yılında Korkmaz ve ark. (31) 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*) görülebilmesini kolaylaştırmak amacıyla, eğimli bir retraktör yardımıyla kafatasının tepesinden kaudale doğru yavaşça gerildi.



Resim1: Ratlara kateter yerleştirilmesi

Derin boyun kaslarını oksipital çıkıntındaki tutunma noktalarından yaklaşık 0.5 cm 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 pozisyonunda 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 suture edilerek cerrahi işlem sonlandırıldı.

Anestezi etkisinden derlenen ve motor fonksiyonları normal olan deneklere cerrahiden bir gün sonra kateterden, 10µL %2 lidokain (Aritmal, Biosel Şirket, İstanbul, Türkiye) verildi. Kateter lokal anestetik 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 serum fizyolojik uygulamalarına, normal motor davranış gösteren ve nörolojik hasarlanma bulgusu olmayan ratlarda, cerrahi işlem sonrası 5.günde başlandı.

Ratlar, randomize olarak 4 gruba ayrıldı:

Grup Serum Fizyolojik (Grup SF) (n:6): 10µL intratekal (İT) SF + 0,5 mL intraperitoneal (İP) SF

Grup Bupivakain (Grup B) (n:6): 10µL İT bupivakain + 0,5 mL İP SF

Grup Bupivakain Ondansetron1 (Grup BO1) (n: 6): 10µL İT bupivakain+1mg /kg İP ondansetron

Grup Bupivakain Ondansetron4 (Grup BO4) (n:6): 10µL İT bupivakain+ 4mg/kg İP ondansetron

Kateter, ilaç uygulamalarının ardından 10 µL SF ile yıkandı.

Tail-flick Testi

Tail-flick testi, *tail-flick* cihazı (MAY TF 0703TAIL FLICK, COMMAT Ltd. Şti, Türkiye) (Resim 2) ile ortam ısısı 20–21 °C olan sessiz bir odada gerçekleştirildi.



Resim 2: Ratın *Tail-Flick* cihazına yerleştirilmesi



Resim 3: *Tail-Flick* cihazında ölçüm

İlaç uygulamasından bir gün önce tüm denekler ölçüm yapılmaksızın *tail-flick* cihazına 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 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 ve 120. dakikalarda iki ölçüm yapıldı. Ölçümlerin ortalaması kaydedildi. Veriler maksimum olası etki yüzdesi olarak gösterildi.

% MOE (maksimum olası etki) = (ilaç uygulama sonrası zaman – bazal değer) X 100 / (*cut-off time* – bazal değer)

Motor Blok Değerlendirme

Motor blok değerlendirmesi 5, 10, 20, 30, 45, 60 ve 90. dakikalarda yapılan *Tail-Flick* testini takiben, ratın döz bir zeminde yürümesi izlenerek arka bacaklarındaki motor kuvvet değerlendirilmiştir. Arka bacakları ile hiç hareket edemeyen denekler tam blok, yürümede zorlanan, arka bacaklarını tam olarak çekemeyip sendeleyen ratlar parsiyel blok olarak değerlendirilmiştir.

Arka ekstremitelerdeki motor fonksiyon şu skala ile değerlendirilmiştir;(32)

0= Motor blok yok

1= Parsiyel blok

2= Tam blok

Hayvan Yaşamını Sonlandırma Yöntemi

Denekler tail-flick uygulamasından 24 saat sonra İP verilen 120 mg/kg tiyopental ile sakrifiye edilmişlerdir.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistik analiz SPSS for Windows istatistik programının 11.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma biçiminde verildi. Grup içi değerlendirmeler *Wilcoxon Signed Ranks Test* kullanılarak yapıldı. 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 hiçbir denekde motor fonksiyon kaybı gözlenmedi ve serum fizyolojik (SF) grubundan bir denek öldüğü için 5 deneğin verileri elde edildi. .

Vücut Ağırlıkları

Vücut ağırlıklarının ortalama değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları (g) Ort± SS.

Grup SF (n=5)	286.00 ± 7.41
Grup B (n=6)	281.66 ± 18.07
Grup BO1 (n=6)	275.83 ± 7.35
Grup BO4 (n=6)	262.50 ± 17.24

Tail-Flick Testi

Gruplar arasında *tail-flick* değerleri karşılaştırıldığında 0. dk. ortalama değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı ($p> 0.05$).

Gruplar arasında 5. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B’de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.009$). Grup SF ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.009$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.009$).

Gruplar arasında 10. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B’de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.004$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama

değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.009$).

Gruplar arasında 20. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.004$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.041$).

Gruplar arasında 30. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.004$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.009$).

Gruplar arasında 45. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.009$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.041$).

Gruplar arasında 60. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında *tail-flick* ortalama değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-*

flick ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sirasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.002$).

Gruplar arasında 90. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında Grup SF'de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.030$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sirasıyla $p= 0.002$, $p=0.002$) Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.002$).

Gruplar arasında 120. dk *tail-flick* ortalama değerleri Grup SF ile Grup B karşılaştırıldığında, Grup B'de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.004$). Grup SF ile Grup BO1 karşılaştırıldığında Grup BO1 de *tail-flick* ortalama değeri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Grup SF ile Grup BO4 karşılaştırıldığında Grup SF'de *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p=0.017$). Grup B ile Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup B de *tail-flick* ortalama değerleri anlamlı yüksek bulundu (sirasıyla $p= 0.009$, $p=0.002$). Grup BO1 ile Grup BO4 karşılaştırıldığında, Grup BO1 *tail-flick* ortalama değeri anlamlı yüksek bulundu ($p= 0.002$).

Tablo 3. Grupların *tail-flick* ortalama değerleri (%MOE) ve 0. dk bazal değerler (sn) Sonuçlar ortalama \pm SD olarak gösterilmiştir.

Dk	Grup SF (n=5)	Grup B (n=6)	Grup BO1 (n=6)	Grup BO4 (n=6)
0	5.06 \pm 0.05	4.58 \pm 0.54	4.98 \pm 0.21	5.22 \pm 0.88
5	3.06 \pm 5.79	14.69 \pm 5.75¶‡†	6.72 \pm 2.45§	-3.62 \pm 8.80
10	3.17 \pm 4.05	32.65 \pm 11.50¶‡†	12.90 \pm 2.63*§	2.23 \pm 6.69
20	2.56 \pm 3.30	78.31 \pm 12.62¶‡†	21.91 \pm 2.44*§	11.32 \pm 8.57
30	3.46 \pm 1.60	53.86 \pm 8.41¶‡†	13.75 \pm 4.93*§	-1.31 \pm 7.53
45	-0.58 \pm 2.12	35.50 \pm 6.89¶‡†	5.04 \pm 2.29*§	-4.51 \pm 7.74
60	0.52 \pm 3.64	24.27 \pm 3.27¶‡†	5.57 \pm 1.71§	-9.61 \pm 8.74
90	-0.38 \pm 2.52#	18.90 \pm 4.07¶‡†	3.41 \pm 3.56§	-12.62 \pm 12.40
120	-1.61 \pm 2.86#	9.14 \pm 5.95¶‡†	0.23 \pm 2.62§	-15.83 \pm 14.37

¶= p<0.05 Grup SF ve Grup B karşılaştırıldığında,
 *= p<0.05 Grup SF ve Grup BO1 karşılaştırıldığında,
 #= p<0.05 Grup SF ve Grup BO4 karşılaştırıldığında,
 ‡= p<0.05 Grup B ve Grup BO1 karşılaştırıldığında,
 †= p<0.05 Grup B ve Grup BO4 karşılaştırıldığında,
 §= p<0.05 Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında.

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

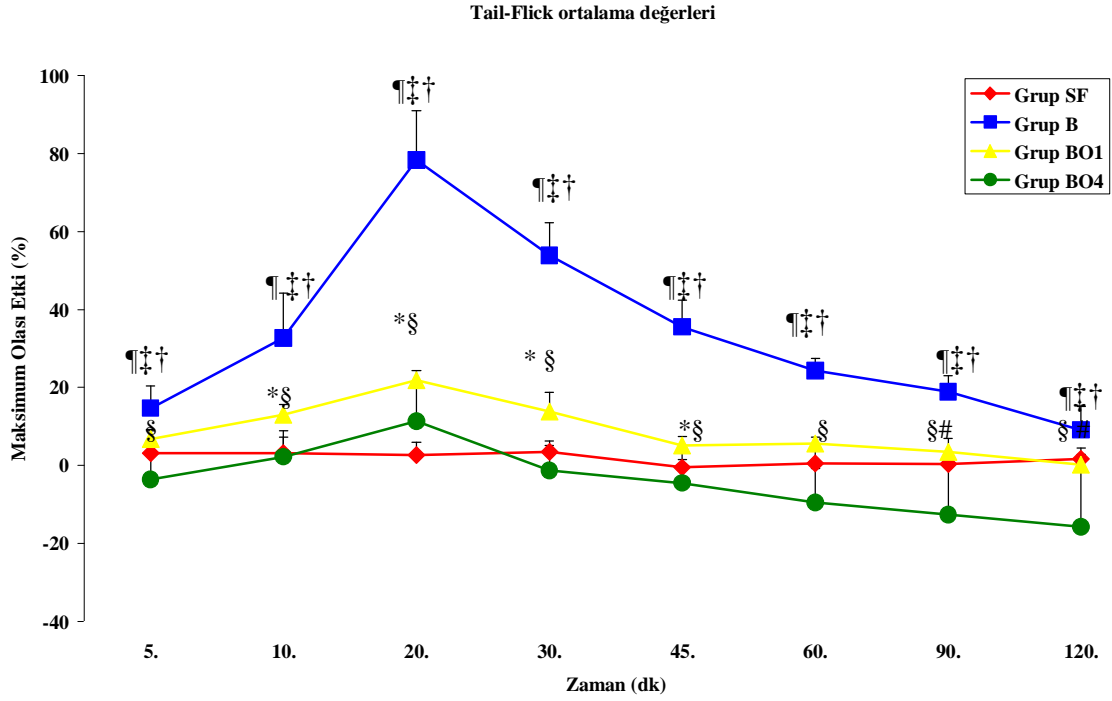
Dk	Grup SF (n=5)	Grup B (n=6)	Grup BO1 (n=6)	Grup BO4 (n=6)
0	5.06 \pm 0.05	4.58 \pm 0.54	4.98 \pm 0.21	5.22 \pm 0.88
5	5,37 \pm 0,57	6,10 \pm 0,58¶	5,65 \pm 0,28¶	4,93 \pm 0,35
10	5,38 \pm 0,42	7,95 \pm 1,21¶	6,26 \pm 0,10¶	5,48 \pm 0,47
20	5,32 \pm 0,33	12,69 \pm 1,24¶	7,15 \pm 0,18¶	6,35 \pm 0,86¶
30	5,41 \pm 0,13	10,13 \pm 0,96¶	6,35 \pm 0,44¶	5,14 \pm 0,58
45	5,01 \pm 0,23	8,26 \pm 0,52¶	5,48 \pm 0,24¶	4,84 \pm 0,37
60	5,12 \pm 0,35	7,10 \pm 0,16¶	5,52 \pm 0,26¶	4,34 \pm 0,30*
90	5,03 \pm 0,24	6,54 \pm 0,40¶	5,40 \pm 0,17	4,07 \pm 0,67*
120	4,91 \pm 0,23	5,55 \pm 0,16¶	5,00 \pm 0,17	3,76 \pm 0,91*

¶= p<0.05 Grup içi 0. dk ile diğer lim dk ları karşılaştırıldığında anlamlı yüksek,

*= p<0.05 Grup içi 0. dk ile diğer lim dk ları karşılaştırıldığında anlamlı düşük,

Grup içi değerlendirmelerde; Grup SF’de 0.dakika ile karşılaştırıldığında diğer tüm dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0.05).Grup B’de 0. dakika ile karşılaştırıldığında, diğer tüm dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı yükseklik gözlenmiştir (p<0,05).Grup BO1’de 0. dakika ile karşılaştırıldığında 5., 10., 20., 30., 45. ve 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı yükseklik gözlenmiştir (p<0.05),diğer dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0.05).Grup BO4’de 0. dakika ile karşılaştırıldığında 20. dakikada istatistiksel olarak anlamlı yükseklik gözlenmiştir (p<0.05), 60., 90., ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı düşüklük gözlenmiştir (p<0.05), diğer dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0.05).

Yapılan motor blok değerlendirilmesinde; tüm gruplardaki deneklerde 5, 10, 20, 30, 45, 60 ve 90. dk motor blok gözlenmemiştir



Grafik 1. Grupların zamana göre Tail-Flick sürelerinin dağılımı

- ¶= p<0.05 Grup SF ve Grup B karşılaştırıldığında,
- *= p<0.05 Grup SF ve Grup BO1 karşılaştırıldığında,
- #= p<0.05 Grup SF ve Grup BO4 karşılaştırıldığında,
- ‡= p<0.05 Grup B ve Grup BO1 karşılaştırıldığında,
- †= p<0.05 Grup B ve Grup BO4 karşılaştırıldığında,
- §= p<0.05 Grup BO1 ve Grup BO4 karşılaştırıldığında.

TARTIŞMA

Çalışmamızda 10 µg intratekal bupivakainin analjezik etkisinin 1 mg/kg intraperitoneal ondansetron ile azaldığını ve bu azalmanın 4 mg/kg intraperitoneal ondansetron ile daha da fazla olduğunu saptadık.

Sınırlı bir subaraknoid aralığa sahip olan ratlarda intratekal uygulamaların güç olabileceği bildirilmekle birlikte, birçok çalışmada ilaçların spinal düzeydeki etkilerini göstermede uygun denekler olduğu belirtilmiştir (33–38). Araştırmamızda intratekal uygulanan bupivakain ve ondansetronun analjezik etkinliğini değerlendirmek için, kolay elde edilmeleri ve özel donanımlı laboratuvar koşullarına gereksinimleri olmamaları nedeniyle Wistar türü ratları seçtik.

Yaksh ve Rudy (30), 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 (30), rat ve tavşanlarda anestezi uygulanmasına gerek olmadan, tekrarlayan dozlarda ilaç solüsyonlarının, spinal subaraknoid boşluğa verilmesine olanak sağlayan bir yöntem geliştirmişlerdir.

Farklı intratekal kateterizasyon yöntemlerini değerlendiren Storkson ve ark.(39) 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.

Korkmaz ve ark. (31) araştırmalarının ön deney aşamasında 8 ratın 5 tanesinin kateter takılması sonrasında ilk saatler içinde ölmesi ve 3 ratta ise motor fonksiyonlarında kayıp gözlenmesi üzerine ölen deneklere otopsi uygulamışlar. Yapılan otopsilerinde ratların beyin köklerinde 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 kateterin takılma işlemini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmamızda bu

nedenle Korkmaz ve ark (31) tanımladığı yöntemle atlantoaksiyal membran yoluyla intratekal kateter yerleştirdik.

Deneysel çalışmalarda nosiseptif yanıtların değerlendirilmesi farklı şekillerde yapılmaktadır (40). *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 (41). *Tail-flick* testinin termal ağrı ölçümleri ve analjezik ilaçların farmakolojik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda yararlı olduğu bildirilmiştir (26). *Tail flick* cevabı spinal kord tarafından düzenlenir (42). Çalışmamızda *tail-flick* testi, diğer ağrı modellerinden farklı olarak hayvanın ağrıya yanıtının kolayca gözlemlenebilmesi ve elde edilen verilerin zaman ile ilişkilendirilebilmesi nedeniyle tercih edilmiştir.

Ratlarda, intratekal yolla uygulanan bupivakainin analjezik etkisini araştırmak için 1–100 µg arasında farklı dozlar uygulanmıştır (42-44). Motor blok oluşturmadan analjezik etkinlik gösteren dozların 1–10–30 µg olduğu gösterildiği için bizde bupivakain dozunu 10 µg olarak belirledik

Çalışmamızda 10 µg intratekal bupivakainin SF grubu ile kıyaslandığında belirgin bir analjezik etkinliği olduğu bulundu. Bu etkinin daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi 20. dakikaya kadar arttığı, bu dakikada en üst düzeye ulaştığı ve sonraki dakikalarda etkinliğin giderek azaldığını saptadık (42- 44).

Yapılan çalışmalarda ondansetronun intraperitoneal ve subkutan 1–2–4 mg/kg dozlarında kullanılmasından dolayı bizde iki farklı ondansetron dozunu 1–4 mg/kg olarak uyguladık (8, 9, 17).

Çalışmamızda 10 µg intratekal bupivakainin analjezik etkisinin, tüm dakikalarda 1 mg/kg ondansetron ile anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. Aynı şekilde 4 mg/kg ondansetron grubunda azalmanın, 1 mg/kg ondansetron grubuna göre daha da fazla olduğu hatta 90. ve 120. dakikalarda bazal değerinde altına indiği saptanmıştır. Ondansetronun tek başına bir hiperaljezi mi oluşturduğu yoksa bupivakainin bilinen etki mekanizması dışında serotonerjik sistem üzerinden mi etkili olduğu sorularının cevaplanamaması, bu azalmanın mekanizmasının tam olarak açıklanamamasının sebepleri olarak düşünülebilir.

Ondansetronun analjezik etkinliğe sahip ilaçlarla farklı şekilde etkileşmesi tartışmaların ana konusunu oluşturmaktadır

Fassulaki ve ark. (12) yaptıkları çalışma bizimde tez konumuzun çıkış noktasını oluşturdu. Bu çalışmada transüretral cerrahi geçirecek hastalarda intratekal %5 hiperbarik lidokain ile spinal anestezi oluşturup ondansetron eklenmiş grupta duyuşal bloğun antagonize olduğunu göstermişlerdir. Bu etkinin mekanizmasını tam olarak açıklayamamışlardır, hatta bu hipotezi sunarlarken duyuşal bloğu artıracağını düşünmüşlerdir. Çalışmalarındaki en önemli eksikliğin lokal anestezik olarak sadece %5 hiperbarik lidokain kullanmaları ve blok değerlendirme sürelerini kısa tutmaları olduğunu söylemişlerdir. Bizde klinikte çok sık olarak kullanılan ve lidokaine göre daha uzun etkili olan bupivakin ile ondansetronun nasıl bir etkileşime gireceğini araştırdık.

Hunt ve ark. (9) ratlarda nifedipinin oluşturduğu analjeziyi intraperitoneal 1mg/kg ondansetronun inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bunu nifedipinin analjezik etkisini, 5 HT₃ reseptörleri üzerinden oluşturmuş olabileceğine bağlamışlardır. Arcioni ve ark.(11) insanlarda, akut ağrıda tramadolun oluşturduğu analjezik etkiyi ondansetronun inhibe ettiğini saptamışlardır. Bunu tramadolun 5 HT₃ reseptörleri üzerinden analjezik etki oluşturmaya ve ondansetronun da 5 HT₃ üzerinden bu etkiyi inhibe etmesine bağlamışlardır. De Witte ve ark.(10) lumbal laminektomi geçiren hastalarda postoperatif ağrının tedavisinde ondansetron eklenen grupta tramadol ile oluşun analjezinin azaldığını ve hasta kontrollu analjezi ile tramadol kullanımının arttığını saptamışlardır. Sandrini ve ark. (17) ratlarda asetilsalisilik asitin santral antinosiseptif aktivitesinin ondansetronun farklı dozlarıyla ortadan kalktığını saptamışlardır.

Bunlara zıt olarak Ye ve ark. (45) ratlarda yaptıkları bir çalışmada, ondansetronun rat beyin nöronlarında Na⁺ kanallarını bloke edip lokal anestezik etki gösterdiğini bulmuşlardır. McCleane ve ark. (46) insanlar da kronik nöropatik ağrıda intravenöz olarak verilen ondansetronun analjezik etki oluşturduğunu saptamışlardır. Petersen-Felix ve ark. (4) alfentanilin analjezik etkisini ondansetronun etkilemediğini saptamışlardır. Riering ve ark. (47) ile Costal ve ark. (48) 5 –HT₃ reseptör antagonistlerinin romatolojik hastalıklarda analjezik olarak kullanıldıklarını belirtmişlerdir.

Tartışmaların ana kaynağı çalışmalarda 5 HT₃ reseptörlerinin nosiseptif yanıt üzerine farklı etkiler gösterdiğinin saptanmasıdır.

Birçok çalışma santral ve/veya periferik 5 HT₃ reseptörlerine etki eden ilaçların potansiyel klinik etkilerini incelemiştir. Bu çalışmalarda 5 HT₃ reseptörlerinin 5 HT bulbospinal analjezisine yardımcı bir rol oynadığı görünmektedir (11, 49). Opioidlerin 5 HT₃ alanlarına periferik, santral ve sistemik olarak verilmesiyle oluşan etkiler klinik açıdan farklıdır. Sistemik verilen 5 HT₃ reseptör antagonistleri hem santral (anti-nosiseptif) hem de periferik (pro-nosiseptif) reseptörleri antagonize edebilir. Periferik veya santral 5 HT₃ reseptörlerinin bu blokajı, doza ve/veya parenteral veriliş yoluna bağlı olabilir (49, 50). Çalışmamızda da bu mekanizmalar etkili olmuş olabilir.

Beyin sapı ve orta beyinden spinal korda inen yolların, nosisepsiyonu artırıp azaltabileceğini gösteren kanıtlar vardır(51). Yapılan çalışmalar da inen eksitator yolların, 5 HT₃ reseptörlerini uyararak nosiseptif yanıtı kolaylaştırdığını destekler(7, 52, 53). Yapılan davranışsal ve elektrofizyolojik çalışmalarda, verilen 5-HT₃ reseptör antagonistlerinin zararlı somatik uyarana karşı oluşan cevaplarda anlamlı bir azalma gözlenmiştir (52, 53, 54). Fakat bu çalışmalara rağmen hayvan modellerinde ağrı modülasyonunda santral 5 HT₃ reseptörlerinin rolü tartışmalıdır. 5 HT₃ reseptörlerinin hem pro-nosiseptif hem de antinosiseptif etkileri rapor edilmiştir (55, 56). Ağrının oluşumunda ve algılanmasında 5 HT₃ reseptörlerinin rolü ağrıyı değerlendirmek için kullanılan tekniklerin yapısına bağlı gibi görünmektedir.

5 HT₃ reseptörlerinin spinal düzeyde ağrı modülasyonunda anahtar bir rol oynadığı çalışmalarda belirtilmiştir. Glaum ve ark. (5) yaptıkları bir çalışmada ratlarda intratekal verilen 5-HT₃ reseptör agonisti 2-methyl-serotoninin antinosiseptif yanıtı arttırdığı ve bu etkinin 5-HT₃ reseptör antagonistleri ile antagonize edildiğini saptamıştır. Alhaider ve ark.(6) yaptıkları çalışmada ratlarda spinal 5 HT₃ reseptörleri ile oluşan antinosiseptif etkinin GABA salınımı ile ilişkili olabileceği ve 5 HT₃ reseptörlerinin GABA salınımını arttırarak nosiseptif iletimi indirekt olarak inhibe edebileceğini belirtmiştir.

Literatürde lokal anestezipler ve 5 HT₃ reseptör antagonistlerinin etkileşimi üzerine fazla çalışma yoktur. Gerek Fassoulaki ve ark. (12) bulduğu sonuçlar gerekse bizim

çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlar, lokal anesteziğin bilinen etki mekanizmaları dışında analjezik etkilerini serotoninerjik sistem üzerinden gösterebileceğini düşündürmektedir.

Naesh ve ark. (3) insanlarda subaraknoid verilen bupivakainin, serotoninin serebrospinal sıvı konsantrasyonunu arttırdığını, bu artışın kan düzeylerinde olmadığını saptamışlardır. Naesh ve ark.(3) lokal anesteziğin plateletlerde ve nöronlarda serotoninin reuptake'ni arttırdığını da belirtmişlerdir. Fakat bupivakainin analjezik etkinliğinde bu artışın rol oynayıp oynamadığını belirtmemişlerdir. Bulduğumuz sonuçlara dayanarak bu artışın bupivakainin analjezik etkinliğinde rol oynayabileceğini ve sistemik olarak verdiğimiz ondansetronun literatürde belirtildiği üzere (47, 48) kan beyin bariyerini kolayca aşarak spinal düzeyde analjezik etkiyi azaltmış olabileceğini düşündük.

Çalışmamızda serebrospinal sıvıdaki serotonin düzeylerinin ölçülmemesi ve ondansetronun tek başına verilmesi ile nasıl bir etki oluşturacağını saptanamaması bu görüşün desteklenmesinde bir eksiklik olarak yorumlanabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Ratlarda yaptığımız bu çalışma ile intraperitoneal olarak uygulanan ondansetronun iki farklı dozunun, doz bağımlı olarak intratekal yolla uygulanan 10 µg bupivakainin analjezik etkisini azalttığı saptandı.

Bu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamaktadır. Bu etkinin daha iyi anlaşılabilmesi için, değişik hayvan örneklerinde farklı doz ve uygulama rejimleri ile ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Dickenson AH. Spinal cord pharmacology of pain. *Br J Anaesth* 1995 Aug;75(2):193–200.
2. Lopez-Garcia JA. Serotonergic Modulation of Spinal Sensory Circuits. *Curr Top Med Chem*. 2006;6(18):1987-96
3. Naesh O, Hindberg I, Christiansen C. Subarachnoid bupivacaine increases human cerebrospinal fluid concentration of serotonin. *Reg Anesth* 1996 Sep-Oct;21(5):446–50.
4. Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Bak P, Bjerring P, Breivik H, Svensson P, Zbinden AM. Ondansetron does not inhibit the analgesic effect of alfentanil. *Br J Anaesth* 1994 Sep;73(3):326–30.
5. Glaum SR, Proudfit HK, Anderson EG. Reversal of the antinociceptive effects of intrathecally administered serotonin in the rat by a selective 5-HT₃ receptor antagonist. *Neurosci Lett* 1988 Dec 19;95(1–3):313–7.
6. Alhaider AA, Lei SZ, Wilcox GL. Spinal 5-HT₃ receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. *J Neurosci* 1991 Jul;11(7):1881–8.
7. Ali Z, Wu G, Kozlov A, Barasi S. The role of 5HT₃ in nociceptive processing in the rat spinal cord: results from behavioural and electrophysiological studies. *Neurosci Lett* 1996 Apr 26;208(3):203–7.
8. Erhan E, Onal A, Kocabas S, Yegül I. Ondansetron does not block Tramadol-induced Analgesia in Mice . *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2005 Nov;27(9):629–32
9. Hunt TE , Wu W,Zbuzej VK Ondansetron blocks nifedipine-induced analgesia in rats *Anesth Analg* 1996; 82: 498–500
10. De Witte JL, Schoenmaekers B, Sesler DI, Deloof T. The analgesic efficacy of tramadol is impaired by concurrent administration of ondansetron. *Anesth Analg* 2001;92:1319-1321.
11. Arcioni R, della Rocca M, Romano S, Romano R, Pietropaoli P, Gasparetto A. Ondansetron inhibits the analgesic effects of tramadol: a possible 5-HT₃ spinal receptor involvement in acute pain in humans. *Anesth Analg* 2002 Jun;94(6):1553–7.
12. Fassoulaki A, Melemeni A, Zotou M, Sarantopoulos C. Systemic ondansetron antagonizes the sensory block produced by intrathecal lidocaine. *Anesth Analg* 2005 Jun;100(6):1817–21.

13. Giordano J, Schultea T. Serotonin 5-HT₃ receptor mediation of pain and antinociception: Implication for clinical therapeutics. *Pain Physician* 2004;7: 141–147.
14. Haus U, Spath M, Farber L. Spectrum of use and tolerability of 5-HT₃ receptor antagonists. *Scand J Rheumatol* 2004;33:12-18.
15. Kayaalp O. Santral sinir sistemi farmakolojisinin temelleri. Rasyonel Tedavi Yönünden TIBBİ FARMAKOLOJİ. Kayaalp SO (ed) Onuncu baskı, Hacettepe-Taş, Ankara 2002; 731–769.
16. Israili ZH. Clinical pharmacology of serotonin receptor type 3(5-HT₃) antagonist. *Curr Med Chem- Central Nervous System Agents* 2001;1:171-199.
17. Sandrini M, Vitale G, Pini LA. Central antinociceptive activity of acetylsalicylic acid is modulated by brain serotonin receptor subtypes. *Pharmacology* 2002;65:193-197.
18. Wolf H. Preclinical and clinical pharmacology of the 5- HT₃ receptor antagonist. *Scand J Rheumatol* 2000; 29 Suppl 113:37-45.
19. Cui M, Feng Y, McAdoo J, Willis WD. Periaqueductal gray stimulation-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats is associated with the release of norepinephrine, serotonin, and amino acids. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289(2):868-876.
20. Kayaalp O.S. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, sekizinci basım, kısım 1998 s. 981-998,1634-1635.
21. Kayhan Z. Klinik anestezi. 2.Baskı. İstanbul. Logos yayıncılık. 1997; 489-498
22. Erdine S. Sinir blokları, 1. baskı, Emre Matbaacılık, İstanbul 1993, 59-80, 187-189.
23. Kayaalp O.S. Tıbbi farmakoloji, beşinci baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara 1990 s. 1691.
24. Sztark F, Malgat M, Dabadie P. Et al. Comparision of effects of bupivacaine and ropivacaine on heart cell mitochondrial bioenergetics. *Anesthesiology* 1998;88(5): 1340-1349.
25. Morgan GA, Maged SM. Klinik Anesteziyoloji, Cuhruk H. (ed) 3.Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara 2004, sf 272.
26. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal Models of Nociception. *Pharmacol Rev* 2001;53:597-652
27. 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
28. Wingerd BD. Rat dissection manual. The Johns Hopkins University Press.Baltimore, London. 1999:5-40.

29. Sharp PE, La Regina MC. The Laboratory Animal Pocket Reference Series: The Laboratory Rat. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1998:12-13
30. Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiology Behavior* 1976;17:1031-1036
31. Korkmaz HA, Maltepe F, Erbayraktar S, Yilmaz O, et al. Antinociceptive and neurotoxicologic screening of chronic intrathecal administration of ketorolac tromethamine in the rat. *Anesth Analg* 2004;98:148-152
32. Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T, Kishimoto T, Saito Y. The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. *Anesth Analg*. 2005 Aug;101(2):541-7
33. Gaumann DM, Yaksh TL. Intrathecal somatostatin in rats: Antinociception only in the presence of toxic effects. *Anesthesiology* 1988;68:733-742
34. Yaksh TL, Grafe MR, Malkmus S, Rathbun M, et al. Studies on the safety of chronically administered intrathecal neostigmine methylsulfate in rats and dogs. *Anesthesiology* 1995;82:412-427
35. 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
36. 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
37. 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
38. 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
39. Storkson RV, Kjorsvik A, Tjolen A, Hole K. Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat. *J Neurosci Methods*. 1996;65:167-172
40. Miranda HF, Bustamente D, Kramer V, Pelissier T, et al. Antinociceptive effects of Ca⁺² channel blockers. *Eur J Pharmacol* 1992;217:137-141
41. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, et al. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain* 1992;51:5-17

42. Nishiyama T, Hanaoka K. Intrathecal clonidine and bupivacaine have synergistic analgesia for acute thermally or inflammatory-induced pain in rats. *Anesth Analg* 2004;98:1056-61
43. Nishiyama T, Hanaoko K. Midazolam can potentiate the analgesic effects of intrathecal bupivacaine on thermal- or inflammatory-induced pain. *Anesth Analg* 2003;96:1386-91
44. Kanai Y, Tateyama S, Nakamura T, Kasaba T, Takasaki M. Effects of levobupivacaine, bupivacaine, and ropivacaine on tail-flick response and motor function in rats following epidural or intrathecal administration. *Reg Anesth Pain Med*. 1999 Sep-Oct;24(5):444-52.
45. Ye JH, Mui WC, Ren J, Hunt TE, Wu WH, Zbuzek VK. Ondansetron exhibits the properties of a local anesthetic. *Anest Analg* 1997;85:1116-1121.
46. McCleane GJ, Suzuki R, Dickenson AH. Does a single intravenous injection of the 5HT₃ receptor antagonist ondansetron have an analgesic effect in neuropathic pain? A double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *Anesth Analg* 2003;97:1474-1478.
47. Riering K, Rewerts C, Zieglgänsberger W. Analgesic effects of 5-HT₃ receptor antagonists. *Scand J Rheumatol Suppl*. 2004;(119):19-23
48. Costall B, Naylor RJ. 5-HT₃ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. 2004 Feb;3(1):27-37.
49. Giordano J, Gerstmann H. Patterns of serotonin and 2-methylserotonin-induced pain may reflect 5-HT₃ receptor sensitization. *Eur J Pharmacol* 2004;483:267-269.
50. Moser PC. The effect of 5-HT₃ receptor antagonists on the writhing response of mice. *Gen Pharmacol* 1995;26:1301-1306
51. Urban MO, Gebhart GF. Spinal contributions to hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:7687-7692.
52. Green GM, Scarth J, Dickenson A. An excitatory role for 5-HT in spinal inflammatory nociceptive transmission; state-dependent actions via dorsal horn 5-HT₃ receptors in the anaesthetized rat. *Pain* 2000;89: 81-88.
53. Suzuki R, Morcuende S, Webber M, Hunt SP, Dickenson AH. Superficial NK1-expressing neurons control spinal excitability through activation of descending pathways. *Nat Neurosci* 2002;12:1319-1326.
54. Rahman W, Suzuki R, Rygh LJ, Dickenson AH. Descending serotonergic facilitation mediated through rat spinal 5HT₃ receptors is unaltered following carrageenan inflammation. *Neurosci Lett* 2004;361:229-31.

55. Oyama T, Ueda M, Kuraishi Y, Akaike A, Satoh M. Dual effect of serotonin on formalin-induced nociception in the rat spinal cord. *Neurosci Res* 1996;361:229-231.
56. Sufka KJ, Schomburg FM, Giordano J. Receptor mediation of 5-HT-induced inflammation and nociception in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1992;41:53-56.

Etik Kurul İzin Belgesi